



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 109295054 B

(45) 授权公告日 2024. 02. 06

(21) 申请号 201810874297.2

C12N 15/74 (2006.01)

(22) 申请日 2018.07.25

C12Q 1/6876 (2018.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 109295054 A

(56) 对比文件

CN 106636447 A, 2017.05.10

CN 104164509 A, 2014.11.26

(43) 申请公布日 2019.02.01

WO 2016099887 A1, 2016.06.23

(66) 本国优先权数据

201710664566.8 2017.07.25 CN

WO 2016205764 A1, 2016.12.22

US 2017321198 A1, 2017.11.09

(73) 专利权人 广州普世利华科技有限公司

地址 510000 广东省广州市海珠区仑头路

78号自编402、403、406号房屋

CN 105793425 A, 2016.07.20

CN 104854241 A, 2015.08.19

(72) 发明人 陈侃 罗镇华

王彦芹. 实验二十一. 《现代分子生物学实验指导》. 西安交通大学出版社, 2017,

Jonathan S Gootenberg et al.. Nucleic

acid detection with CRISPR-Cas13a/C2c2.

《Science》. 2017, 第56卷 (第6336期), 438-442.

(74) 专利代理机构 广州市南锋专利事务所有限

公司 44228

专利代理师 张小黎

审查员 侯玮婷

(51) Int. Cl.

C12N 15/113 (2010.01)

权利要求书2页 说明书35页

C12N 15/10 (2006.01)

序列表90页 附图9页

(54) 发明名称

用于靶向病原体基因RNA的gRNA及基于C2c2的病原体基因的检测方法及试剂盒

(57) 摘要

本发明提供了一种用于靶向病原体基因RNA的gRNA, 本发明还提供了一种基于规律间隔成簇短回文重复序列 (CRISPR) -C2c2系统的人病原体基因检测方法、检测试剂盒。本发明提供了检测方法, 综合了gRNA靶向识别病原体基因转录产物RNA (靶标RNA序列) 的优势以及当CRISPR-C2c2复合物检测到靶标RNA序列时, 复合物会切割带有检测标记的报告RNA, 释放可检测信号的特点, 将CRISPR-C2c2系统应用在病原体基因检测中, 灵敏度高、准确度高, 是一种具有巨大商业应用价值的检测方法及检测试剂盒。

1. 一种特异性识别靶核苷酸的gRNA序列,用于SHERLOCK对靶核苷酸的检测,其特征在于,所述的靶核苷酸为病原体基因对应的RNA序列,所述 gRNA 对应的编码DNA序列包括SEQ ID NO.583-592所示核苷酸序列中的任一条。

2. 一种CRISPR-C2c2系统,其特征在于,包括:

1) C2c2蛋白;

2) 如权利要求1所述的gRNA序列;

所述C2c2蛋白与gRNA结合形成CRISPR-C2c2复合物,并且当所述CRISPR-C2c2复合物与权利要求1所述的靶核苷酸结合时,所述CRISPR-C2c2复合物对:

所述靶核苷酸进行修饰;和/或

报告 RNA进行修饰。

3. 一种非天然存在的或工程化的组合物,其特征在于,所述组合物包含一个或多个载体,该一个或多个载体包含组分I和组分II:

所述组分I包括第一调节元件,以及与所述第一调节元件可操作地连接的编码C2c2蛋白的编码序列;所述组分II包括第二调节元件,以及与所述第二调节元件可操作地连接的编码gRNA的编码序列,其中,所述gRNA包含如权利要求1所述的gRNA序列;

其中,组分I和II位于相同或不同载体上;

所述C2c2蛋白与gRNA结合形成CRISPR-C2c2复合物,并且当所述CRISPR-C2c2复合物与权利要求1所述的靶核苷酸结合时,所述CRISPR-C2c2复合物对:

1) 所述靶核苷酸进行修饰;和/或

2) 报告 RNA进行修饰。

4. 一种如权利要求1所述的gRNA序列在制备试剂盒中的应用,其特征在于,所述试剂盒的使用方法包括如下步骤:包括递送包含1)及2)的组合物,使包含1)及2)的组合物与所述靶核苷酸接近:

1) C2c2蛋白;

2) 如权利要求1所述的gRNA序列;

所述C2c2蛋白与gRNA结合形成CRISPR-C2c2复合物,并且当所述CRISPR-C2c2复合物与权利要求1所述的靶核苷酸结合时,所述CRISPR-C2c2复合物对:

1) 所述靶核苷酸进行修饰;和/或

2) 报告 RNA进行修饰。

5. 一种真核宿主细胞,其特征在于,包含组分I和组分II:

所述组分I包括第一调节元件,以及与所述第一调节元件可操作地连接的编码C2c2蛋白的编码序列;所述组分II包括第二调节元件,以及与所述第二调节元件可操作地连接的编码gRNA的编码序列,其中,所述gRNA包含权利要求1所述的gRNA序列;

其中,组分I和II位于相同或不同载体上;

所述C2c2蛋白与gRNA结合形成CRISPR-C2c2复合物,并且当所述CRISPR-C2c2复合物与权利要求1所述的靶核苷酸结合时,所述CRISPR-C2c2复合物对:

1) 所述靶核苷酸进行修饰;和/或

2) 报告 RNA进行修饰。

6. 如权利要求2所述的CRISPR-C2c2系统,其特征在于,所述的修饰包括切割。

7. 如权利要求3所述的非天然存在的或工程化的组合物,其特征在于,所述的修饰包括切割。

8. 如权利要求4所述的应用,其特征在于,所述的修饰包括切割。

9. 如权利要求5所述的真核宿主细胞,其特征在于,所述的修饰包括切割。

10. 一种检测试剂盒,其特征在于,包括权利要求1提供的gRNA序列、权利要求2提供的CRISPR-C2c2系统、权利要求3提供的非天然存在的或工程化的组合物、权利要求5提供的真核宿主细胞中的一种或多种。

11. 一种如权利要求 10 所述的试剂盒,基于CRISPR-C2c2系统对病原体基因进行检测,其特征在于,所述试剂盒的使用方法包括如下步骤:

1) 制备或提供待测样品,其中,所述待测样品包括DNA和/或RNA;

2) 提供包含a)、b)、及c)的组合物,组分a)包括C2c2蛋白;组分b)包括权利要求1所述的gRNA序列;组分c)包括修饰有分子检测标记的报告RNA;

3) 反应体系中,使包含a) b) c)的组合物与所述待测样品接触,所述C2c2蛋白与gRNA结合形成CRISPR-C2c2复合物,所述CRISPR-C2c2复合物与所述的靶核苷酸结合,并对所述修饰有分子检测标记的报告RNA进行剪切,产生可被检测的分子检测标记;

4) 检测所述分子检测标记,获得检测结果。

12. 一种如权利要求 10 所述的试剂盒,基于CRISPR-C2c2系统对病原体基因进行检测,其特征在于,还包括T7聚合酶。

13. 一种组合物,包括如权利要求1所述gRNA序列,其特征在于,所述组合物的使用方法包括如下步骤:

(i) 所述gRNA与C2c2形成复合物,结合分子标记技术,显现与所述gRNA序列特异性结合的目标RNA在胞内的运输和/或定位;或

(ii) 所述gRNA与C2c2形成复合物,捕获特异性转录物,所述特异性转录物与所述gRNA序列特异性结合。

用于靶向病原体基因RNA的gRNA及基于C2c2的病原体基因的 检测方法及其试剂盒

技术领域

[0001] 本发明涉及基因检测及基因修饰领域,涉及一种用于特异性靶向病原体基因RNA的gRNA,及一种基于规律间隔成簇短回文重复序列(CRISPR)系统的病原体基因检测方法、检测试剂盒;特别涉及一种用于特异性靶向病原体抗性基因和/或特异基因RNA的gRNA,及一种基于规律间隔成簇短回文重复序列(CRISPR)系统的病原体抗性基因和/或特异基因检测方法、检测试剂盒。

背景技术

[0002] 规律成簇间隔短回文重复系统(clustered regularly interspaced short palindromic repeat;CRISPR-associated,CRISPR-Cas)是古菌和细菌的抵抗病毒和质粒侵染的重要免疫防御系统,用来抵抗外源遗传物质的入侵,比如噬菌体病毒和外源质粒。同时,它为细菌提供了获得性免疫:这与哺乳动物的获得性免疫类似,当细菌遭受病毒或者外源质粒入侵时,会产生相应的“记忆”,从而可以抵抗它们的再次入侵。CRISPR/Cas系统可以识别出外源DNA或RNA,并将它们切断,沉默外源基因的表达。正是由于这种精确的靶向功能,CRISPR/Cas系统被开发成一种高效的基因编辑工具。

[0003] CRISPR-Cas系统划分为两大类,第一大类CRISPR-Cas系统由多亚基组成的效应复合物发挥功能;第二大类是由单个效应蛋白(如Cas9,Cpf1,C2c1等)来发挥功能。其中,Cas9,Cpf1,C2c1均具有RNA介导的DNA核酸内切酶活性。目前,Cas9和Cpf1蛋白作为基因组编辑工具被广泛应用,克服了传统基因编辑技术步骤繁琐、耗时长、效率低等缺点,以其较少的成分、便捷的操作以及较高的效率满足了大多数领域的基因编辑需求,并有着潜在且巨大的临床应用价值。

[0004] 在自然界中,CRISPR/Cas系统拥有多种类别,其中CRISPR/Cas9系统是研究最深入,应用最成熟的一种类别。CRISPR-Cas9是一种具有核酸内切酶活性的复合体,识别特定的DNA序列,进行特定位点切割造成双链DNA断裂(Double-strand breaks,DSB),在没有模板的条件下,发生非同源重组末端连接(Non-homologous end joining,NHEJ),造成移码突变(frameshift mutation),导致基因敲除。CRISPR/Cas9是继“锌指核酸内切酶(ZFN)”、“类转录激活因子效应物核酸酶(TALEN)”之后出现的第三代“基因组定点编辑技术”。凭借着成本低廉,操作方便,效率高等优点,CRISPR/Cas9迅速风靡全球的实验室,成为了生物科研的有力帮手。

[0005] CRISPR/Cas9是进行基因编辑的强大工具,可以对基因进行定点的精确编辑。在向导RNA(guide RNA,gRNA)和Cas9蛋白的参与下,待编辑的细胞基因组DNA将被看作病毒或外源DNA,被精确剪切。但是,CRISPR/Cas9的应用也有一些限制条件。首先,待编辑的区域附近需要存在相对保守的PAM序列(NGG)。其次,向导RNA要与PAM上游的序列碱基互补配对。如果在基因的上下游各设计一条向导RNA(向导RNA1,向导RNA2),将其与含有Cas9蛋白编码基因的质粒一同转入细胞中,向导RNA通过碱基互补配对可以靶向PAM附近的目标序列,Cas9蛋

白会使该基因上下游的DNA双链断裂。而生物体自身存在着DNA损伤修复的应答机制,会将断裂上下游两端的序列连接起来,从而实现了细胞中目标基因的敲除。如果在此基础上为细胞引入一个修复的模板质粒(供体DNA分子),这样细胞就会按照提供的模板在修复过程中引入片段插入或定点突变。可以实现基因编辑动物模型的构建。随着研究的深入,CRISPR/Cas技术已经被广泛的应用。除了基因敲除,基因替换等基础编辑方式,它还可以被用于基因激活,疾病模型构建,甚至是基因治疗。

[0006] Cas9靶向切割DNA是通过两种小RNA——gRNA (CRISPR RNA) 和tracrRNA (trans-activating gRNA) 和靶序列互补识别的原理实现的。现在已经把两种小RNA融合成一条RNA链,简称gRNA (guide RNA)。因此,gRNA能否做到特异性、精确靶向目标基因是CRISPR-Cas9能否特异性敲除目标基因的先决条件,无论是脱靶还是错误靶向,都会影响CRISPR-Cas9对目标基因的特异性敲除。因此,能够设计、制备出精确性和特异性靶向目标基因的gRNA成为CRISPR-Cas9基因敲除的关键技术。

[0007] 2015年,一种全新的第二类CRISPR-Cas系统-VI型系统被发现,该系统中的效应蛋白被命名为C2c2。张锋团队于2015年11月5日在《Mol Cell》发表的一篇题为“Discovery and Functional Characterization of Diverse Class 2 CRISPR-Cas Systems”的文章。根据文章可知,这个系统的突破性意义就在于它可以对靶RNA进行编辑,而不是传统的DNA的编辑。该系统基本的工作流程与CRISPR/Cas9类似,还是借助CRISPR序列的“黑名单”系统对入侵者进行打击。但是gRNA形成的方式与CRISPR/Cas9系统不同:C2c2蛋白会与成熟的gRNA复合,在不借助tracrRNA的情况下与外源单链RNA结合,gRNA则会与PFS片段(类似PAM)附近的互补区域杂交。最后,外源单链RNA会被剪切,其基因表达也会被沉默。然而,在切割靶RNA的同时,激活了的C2c2还会降解靶RNA邻近的RNA,称之为“附属切割”。这种只靶向作用于RNA并协助执行基因组指令的能力能够让人们特异性地和高通量地操纵或标记RNA,以及更加广泛地操纵基因功能。而后的研究进一步发现,VI型CRISPR-Cas系统是一种新型靶向RNA的CRISPR系统,而C2c2是一种以RNA为导向靶向和降解RNA的核酸内切酶,有望被开发作为RNA研究的工具,扩展CRISPR系统在基因编辑方面的运用。

[0008] 2016年10月13日,Doudna团队在《Nature》发表的一篇题为“Two distinct RNase activities of CRISPR-C2c2 enable guide-RNA processing and RNA detection”的论文以及2017年1月12日在Cell杂志发表de中科院生物物理研究所王艳丽课题组的标题为“Two Distant Catalytic Sites Are Responsible for C2c2 RNase Activities”的研究都表明gRNAhC2c2通过两个独立的活性结构域来发挥其两种不同的RNA酶切活性,这为研究C2c2发挥RNA酶活性的分子机制提供了重要的结构生物学基础。

[0009] 王艳丽课题组通过深入的研究,解析了C2c2与gRNA的二元复合物的晶体结构以及C2c2蛋白的晶体结构,揭示了C2c2包含一个gRNA识别的结构域即REC结构域,和一个核酸酶结构域即NUC结构域。REC结构域包含N端结构域(N-terminal domain)和Helical-1结构域,NUC结构域包含了两个HEPN结构域、Helical-2结构域以及连接两个HEPN结构域的连接结构域。负责切割前体gRNA和靶标RNA的活性区分别位于Helical-1和HEPN结构域上。gRNA的结合会引起C2c2蛋白的构象变化,这种变化很可能会稳定gRNA的结合,进而对激活C2c2切割靶RNA的活性,降解靶RNA及靠近靶RNA的其他RNA。以上研究通过结构和生化研究揭示了C2c2剪切pre-gRNA以及切割靶标RNA的分子机制,对认识细菌抵抗RNA病毒入侵的分子基础

具有十分重要的意义。同时也为改造CRISPR-C2c2系统,为其在基因编辑领域的运用提供了强有力的结构基础,有助于加速对病毒感染引发的疾病的理解、治疗和预防。另外,Doudna教授的研究还发现,可以利用C2c2的此种“附属切割”的效应集合报告RNA来检测靶RNA的存在与否。

[0010] 2017年4月13日,Science杂志发表一项题为“Nucleic acid detection with CRISPR-Cas13a(即C2c2)”的重要研究进展。来自Broad研究所、McGovern研究所等机构的一个科学家小组改造了靶向RNA的CRISPR系统,使其成为了快速、便宜且高度灵敏的诊断工具。这一发现有望为科学研究以及全球公共卫生带来变革性的影响。CRISPR先驱张锋以及Broad研究所的James J.Collins是该研究的共同通讯作者。Broad研究院的研究人员指出,利用一种新CRISPR技术:CRISPR-Cas13a/C2c2,可以高灵敏度检测包括寨卡病毒感染,登革热病毒感染等在内的疾病,其原理在于将CRISPR-Cas13a与等温核酸扩增结合,检测特异性的RNA和DNA。

[0011] 研究人员指出Cas13a有独特的性质,Cas13a与DNA靶向CRISPR酶(如Cas9和Cpf1)不同,这种酶在切割其靶向RNA后可保持活性,而且可能表现出混杂行为(promiscuous behavior),继续切割其它非靶向RNA,这被张锋实验室称为“附属切割”(collateral cleavage,生物通译)。这种活性是新开发的核酸检测平台SHERLOCK(Specific High Sensitivity Enzymatic Reporter UNLOCKing)的关键特征,此外,SHERLOCK还包含有一个切割时发出荧光的报告RNA。当Cas13a检测到靶标RNA序列时,其RNase活性就会切割报告RNA,释放可检测的荧光信号。“我们知道Cas13a具有灵敏的附属活性,但最初我们分析其特征时,发现其灵敏度还不够,”张锋实验室另外一位研究生:Jonathan Gootenberg说。为了解决这个问题,该小组与James Collins合作,采用了Collin研究组之前研发的纸质寨卡病毒检测技术。将这两种技术结合起来的新系统能够以极低浓度检测单RNA和单DNA分子。

[0012] 病原菌中的多重抗生素抗性的出现和传播是全球性的健康危机。比如, β -内酰胺抗生素是用于治疗细菌感染的最成功的药物之一并且占据了全球抗生素市场总额的大约65%。在1940年公开了观察 β -内酰胺酶的首篇报告之后,也就是引入首个商用抗生素(青霉素)的前一年,超过1,200个不同的 β -内酰胺酶(bla)基因已经在临床菌株中得到鉴别,显示了bla基因由于其连续突变所致的显著多样性。

[0013] 为实现病原体的早期检测并使耐药菌传播减至最小,开发低成本、准确、高效、快速地检测抗性基因及病原体相关特异基因的诊断方法非常重要。使用经典的基于培养的表型试验测定易感性或抗性是临床微生物实验室中使用的一般方法,但由于酶表达的可变水平以及一些抗生素组合的不良特异性,传统的检测方法耗时并且准确性不高。基于分子的诊断方法可以提高检测抗性基因的速度和准确性,这对医院和社区环境中的感染控制、预防、治疗很有意义。

[0014] 申请人研究发现,目前还未有基于CRISPR-C2c2系统的病原体基因检测方法的相关报道。正如设计、制备出精确、特异性靶向目标基因的gRNA是CRISPR-Cas9基因敲除的关键技术,高效、特异性靶向目标病原体基因基因的gRNA也是CRISPR-C2c2识别靶基因的关键,并进一步使得基于CRISPR-C2c2系统的病原体基因基因的编辑、修饰、检测成为可能。

[0015] 因此,拟申请一种基于CRISPR-C2c2系统的病原体基因检测方法、检测试剂盒及用于特异性靶向病原体基因RNA的gRNA。

[0016] 在本文中提及或通过引用结合在本文中的任何文献中的任何产品的任何制造商的说明书、说明、产品规格、和产品表,通过引用并入本文,并且可以在本发明的实践中采用。更具体地说,所有参考的文献均通过引用并入本文,其程度如同每个单独的文献被确切地并单独地指明通过引用而并入本文。

发明内容

[0017] 为解决上述问题,本发明提供了一种用于特异性靶向病原体基因RNA的gRNA及基于CRISPR-C2c2系统的病原体基因检测方法、检测试剂盒。

[0018] 若无特殊说明,本发明所述的技术方案优选采用CRISPR-C2c2系统。

[0019] 本发明第一方面提供了一种特异性识别靶核苷酸的gRNA序列,所述的靶核苷酸为病原体基因对应的RNA序列,所述gRNA对应的编码DNA序列包括表2中SEQ ID NO.85-SEQ ID NO.844所示核苷酸序列中的一条或多条。

[0020] 本发明一实施例中,所述病原体基因为病原体抗性基因和/或病原体特异基因。

[0021] 本发明一实施例中,所述病原体基因包括表1中SEQ ID NO.1-SEQ ID NO.84所示核苷酸序列的一条或多条。

[0022] 本发明一实施例中,所述“病原体基因对应的RNA序列”为病原体基因对应的转录物。

[0023] 本发明实施方式中,术语“gRNA对应的编码DNA序列”经过转录后即获得本发明第一方面所述gRNA序列,具体地,可采用将gRNA对应的编码DNA序列克隆到包含T7启动子的载体中,或通过PCR、退火、合成等方式直接在gRNA对应的编码DNA的前端加上T7启动子,经转录可获得转录产物gRNA序列。

[0024] 值得注意的是,本申请人针对表1中SEQ ID NO.1-84所示的每一条病原体基因均设计了多条gRNA,每条gRNA均可独立地、特异性识别该行对应的病原体基因。

[0025] 例如,所述病原体基因为intI1,gRNA对应的编码DNA序列包括表2中SEQ ID NO.85-SEQ ID NO.94所示核苷酸序列中的一条或多条。所述病原体基因为intI2,gRNA对应的编码DNA序列包括表2中SEQ ID NO.95-SEQ ID NO.104所示核苷酸序列中的一条或多条。以此类推,本领域技术人员可以理解的是,表1中SEQ ID NO.1-84所示的每一条病原体基因均分别对应表2中的一条或多条gRNA。申请人不一一说明。

[0026] 本发明一实施例中,gRNA可通过完全互补或基本互补、或以一定互补百分比特异性识别所述靶核苷酸序列。

[0027] 本发明所提供的gRNA与所述靶核苷酸序列具有足够互补性以便与该靶核苷酸序列杂交并且指导CRISPR-C2c2与该靶核苷酸序列的特异性结合。在一些实施例中,gRNA与其相应的靶核苷酸序列之间的互补程度是约或多于约50%、60%、75%、80%、85%、90%、95%、97.5%、99%或更多。

[0028] 本发明实施例中,“互补”是指核酸与另一个核酸序列借助于传统的沃森-克里克碱基配对或其他非传统类型形成一个或多个氢键。“互补百分比”表示一个核酸分子中可与一个第二核酸序列形成氢键(例如,沃森-克里克碱基配对)的残基的百分比(例如,10个之中有5、6、7、8、9、10个即为50%、60%、70%、80%、90%、和100%互补)。“完全互补”表示一个核酸序列的所有连续残基与一个第二核酸序列中的相同数目的连续残基形成氢键。如本

文使用的“基本上互补”是指在一个具有8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、35、40、45、50个或更多个核苷酸的区域上至少为60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%、99%、或100%的互补程度。

[0029] 本发明一实施方式中,所述gRNA是靶向序列与gRNA骨架序列连接组成成熟的gRNA序列。

[0030] 本发明一实施方式中,所述靶向序列对应的编码DNA序列为如表2中SEQ ID NO.85-SEQ ID NO.844所示核苷酸序列中的一条或多条。

[0031] 常见的gRNA骨架序列包括但不限于:

[0032] 5'-GAUUUAGACUACCCCAAAAACGAAGGGGACUAAAAC。

[0033] 在不借助tracrRNA的情况下,C2c2蛋白(即Cas13a)会与gRNA复合,形成Cas13a-gRNA复合物,当Cas13a-gRNA复合物检测到靶核苷酸(本发明记为第一目标核酸)时,其RNase活性就会断裂、切割或标记靶核苷酸和报告RNA(本发明记为第二目标核酸,所述报告RNA为本发明后续第二方面、第三方面及第四方面中所述的“与靶核苷酸相关的序列”的具体实施方式的一种);其中,第一目标核酸带有PFS片段(类似PAM),可以被Cas13a-gRNA复合体中的gRNA特异性识别。

[0034] 本发明一实施方式中,被第二目标核酸可为带荧光标记的报告RNA链,报告RNA链在被剪切后,会发出荧光,因此,通过检测荧光可检测、判断第一目标核苷酸。

[0035] 本发明一实施方式中,Cas13a-gRNA复合体对第一目标核酸的识别是特异性的。

[0036] 本发明一实施方式中,Cas13a-gRNA复合体对第二目标核酸的切割是非特异性的。

[0037] 本发明实施方式中,所述“Cas13a-gRNA复合体/物”、“CRISPR-Cas13a复合体/物”、“CRISPR-C2c2复合体/物”概念可以互换。

[0038] 在本发明实施方式中,术语“靶核苷酸”、“第一目标核酸”、“第二目标核酸”是指核糖核苷酸或其类似物。以下是“靶核苷酸”、“第一目标核酸”或“第二目标核酸”的非限制性实例:信使RNA(mRNA)、转运RNA、核糖体RNA、短干扰RNA(siRNA)、短发夹RNA(shRNA)、microRNA(miRNA)、ssRNA、或任何分离的RNA(具体地,包括单链RNA或带单链RNA的双链RNA)。“靶核苷酸”、“第一目标核酸”、“第二目标核酸”可以包含一个或多个经修饰的核苷酸,如甲基化的核苷酸和核苷酸类似物。核苷酸可以通过分子标记(如荧光标记,或其他可检测的分子标记)来进一步修饰。

[0039] 在本发明实施方式中,术语“靶核苷酸”和“靶多核苷酸”可以互换。

[0040] 本发明第二方面提供了一种CRISPR-C2c2系统,包括:

[0041] 1) C2c2效应蛋白;

[0042] 2) 一种或多种核酸,其中,所述一种或多种核酸包含至少一种如第一方面所述的gRNA序列;

[0043] 所述C2c2蛋白与gRNA结合形成CRISPR-C2c2复合物,并且当所述CRISPR-C2c2复合物与第一方面所述的靶核苷酸结合时,所述CRISPR-C2c2复合物对所述靶核苷酸和/或与靶核苷酸相关的序列进行修饰。

[0044] 在本发明优选实施方式中,所述的修饰是引入断裂、切割或标记。

[0045] 本发明第二方面一实施例中,所述靶核苷酸包括第一方面所述的靶核苷酸(靶RNA)和/或报告RNA。

[0046] 本发明第三方面提供了一种非天然存在的或工程化的组合物,所述组合物包含一个或多个载体,该一个或多个载体包含组分I和组分II:

[0047] 所述组分I包括第一调节元件,以及与所述第一调节元件可操作地连接的编码C2c2蛋白的编码序列;所述组分II包括第二调节元件,以及与所述第二调节元件可操作地连接的编码gRNA的编码序列,其中,所述gRNA包含如第一方面所述的gRNA序列;

[0048] 其中,组分I和II位于相同或不同载体上;

[0049] 所述C2c2蛋白与gRNA结合形成CRISPR-C2c2复合物,并且当所述CRISPR-C2c2复合物与第一方面所述的靶核苷酸结合时,所述CRISPR-C2c2复合物对所述靶核苷酸和/或与靶核苷酸相关的序列进行修饰。

[0050] 在本发明优选实施方式中,所述的修饰是引入断裂、切割或标记。

[0051] 本发明第三方面一实施例中,所述靶核苷酸包括第一方面所述的靶核苷酸(靶RNA)和/或报告RNA。

[0052] 在本发明实施方式中,术语“载体”是指一种核酸分子,它能够运送与其连接的另一种核酸分子。载体包括但不限于,单链、双链、或部分双链的核酸分子;包括一个或多个自由端、无自由端(例如环状的)的核酸分子;包括DNA、RNA、或两者的核酸分子;以及本领域已知的其他多种多样的多核苷酸。可选地,一种类型的载体是“质粒”,其是指其中可以例如通过标准分子克隆技术插入另外的DNA片段的环状双链DNA环。可选地,另一种类型的载体是病毒载体,其中病毒衍生的DNA或RNA序列存在于用于包装病毒(例如,逆转录病毒、复制缺陷型逆转录病毒、腺病毒、复制缺陷型腺病毒、以及腺相关病毒)的载体中。病毒载体还包含由用于转染到一种宿主细胞中的病毒携带的多核苷酸。某些载体(例如,具有细菌复制起点的细菌载体和附加型哺乳动物载体)能够在它们被导入的宿主细胞中自主复制。其他载体(例如,非附加型哺乳动物载体)在引入宿主细胞后整合到该宿主细胞的基因组中,并且由此与该宿主基因组一起复制。而且,某些载体能够指导它们可操作连接的基因的表达。这样的载体在此被称为“表达载体”。在重组DNA技术中使用的普通表达载体通常是质粒形式。

[0053] 通常,在载体内,“可操作地连接”旨在表示核苷酸序列以一种允许该核苷酸序列的表达的方式被连接至一个或多个调节元件(可选地,载体处于一种体外转录/翻译系统中可以表达该核苷酸序列;可选地,当该载体被引入到宿主细胞中时可以表达该核苷酸序列)。

[0054] 在本发明实施方式中,术语“表达”是指从DNA模板转录成多核苷酸(如转录成mRNA或其他RNA转录物)的过程和/或转录的mRNA随后翻译成肽、多肽或蛋白质的过程。转录物和编码的多肽可以总称为“基因产物”。如果多核苷酸来源于基因组DNA,表达可以包括真核细胞中mRNA的剪接。

[0055] 本文使用的术语“非天然存在的”或“工程化的”可互换地使用,当指核酸分子或多肽时,表示该核酸分子或多肽至少基本上从它们在自然界中或如发现于自然界中的与其结合的至少另一种组分游离出来。

[0056] 在本发明优选实施方式中,所述的第一调节元件包括一个或多个p01 III启动子(例如1、2、3、4、5、或更多个p01 III启动子)、一个或多个p01 II启动子(例如1、2、3、4、5、或更多个p01 II启动子)、一个或多个p01 I启动子(例如1、2、3、4、5、或更多个p01 I启动子)、或其组合。p01 III启动子的实例包括但不限于U6和H1启动子。p01 II启动子的实例包括但

不限于逆转录劳斯肉瘤病毒 (RSV) LTR启动子 (任选地具有RSV增强子)、巨细胞病毒 (CMV) 启动子 (任选地具有CMV增强子) [参见,例如,波沙特 (Boshart) 等人,《细胞》(Cell) 41:521-530 (1985)]、SV40启动子、二氢叶酸还原酶启动子、 β -肌动蛋白启动子、磷酸甘油激酶 (PGK) 启动子、和EF1 α 启动子。

[0057] 在本发明一些实施方式中,编码C2c2蛋白的编码序列经密码子优化,以便在特定的细胞如真核细胞中表达。这些真核细胞可以是特定生物的那些或来源于特定生物,如哺乳动物,包括但不限于人、小鼠、大鼠、兔、狗、或非人类灵长动物。一般而言,密码子优化是指通过用在宿主细胞的基因中更频繁地或者最频繁地使用的密码子代替天然序列的至少一个密码子(例如约或多于约1、2、3、4、5、10、15、20、25、50个、或更多个密码子同时维持该天然氨基酸序列而修饰一个核酸序列以便增强在感兴趣宿主细胞中的表达的方法。不同的物种对于具有特定氨基酸的某些密码子展示出特定的偏好。密码子偏好性(在生物之间的密码子使用的差异)经常与信使RNA (mRNA) 的翻译效率相关,而该翻译效率则被认为依赖于(除其他之外)被翻译的密码子的性质和特定的转运RNA (tRNA) 分子的可用性。细胞内选定的tRNA的优势一般反映了最频繁用于肽合成的密码子。因此,可以将基因定制为基于密码子优化在给定生物中的最佳基因表达。密码子利用率表可以容易地获得,例如在密码子使用数据库(“Codon Usage Database”)中,并且这些表可以通过不同的方式调整适用。参见,中村Y. (Nakamura Y.) 等人,“从国际DNA序列数据库中制表的密码子使用:2000年的状态”(Codon usage tabulated from the international DNA sequence databases:status for the year 2000)《核酸研究》(Nucl. Acids Res.) 28:292 (2000年)。用于密码子优化特定的数列以便在特定的宿主细胞中表达的计算机算法也是可得的,如基因制造 (Gene Forge) (Aptagen公司;雅各布斯 (Jacobus), PA), 也是可得的。在一些实施例中,在编码CRISPR酶的序列中的一个或多个密码子(例如1、2、3、4、5、10、15、20、25、50个、或更多个、或所有密码子)相应于对于特定氨基酸最频繁使用的密码子。

[0058] 在本发明实施方式中,术语“C2c2”、“C2c2蛋白”、“C2c2效应蛋白”、“Cas13a”、“Cas13a蛋白”、“Cas13a效应蛋白”可以互换;C2c2蛋白是一个RNA-靶向的RNase,切割ssRNA (单链小分子RNA)。现有文献公开的C2c2蛋白同样适用本发明实施例,所述现有文献包括但不限于:

[0059] 1、Discovery and Functional Characterization of Diverse Class 2 CRISPR-Cas Systems, Nature, 2016 Oct 13;

[0060] 2、C2c2 is a single-component programmable RNA-guided RNA-targeting CRISPR effector, Science, 2016 Aug 5;

[0061] 3、Two distinct RNase activities of CRISPR-C2c2 enable guide-RNA processing and RNA detection, Nature, 2016 Oct 13;

[0062] 4、Two Distant Catalytic Sites Are Responsible for C2c2 RNase Activities, Cell, 2017 Jan 12。

[0063] 在本发明一实施方式中,C2c2蛋白为源自Leptotrichia wadei F0279或Leptotrichia shahii的Cas13a蛋白基因,即分别为LwCas13a、LshCas13a。

[0064] 在本发明一实施方式中,C2c2蛋白包括C2c2蛋白的同系物或其修饰形式。

[0065] 在本发明一实施方式中,所述组分I还包括任何其他蛋白质或多肽结构域的编码

序列,以及任选地在任何两个结构域之间的连接序列,所述连接序列具体地,可编码如C2c2蛋白与任何其他蛋白质或多肽结构域的连接肽段,并获得融合蛋白。可以融合到C2c2蛋白上的蛋白质结构域的实例包括但不限于表位标签、报告基因序列、以及具有下列活性的一者或多者的蛋白质结构域:甲基酶活性、脱甲基酶活性、转录激活活性、转录阻遏活性、转录释放因子活性、组蛋白修饰活性、RNA切割活性和核酸结合活性。表位标签的非限制性实例包括组氨酸(His)标签、V5标签、FLAG标签、流感病毒血凝素(HA)标签、Myc标签、VSV-G标签、和硫氧还蛋白(Trx)标签。报告基因的实例包括,但不限于,谷胱甘肽-S-转移酶(GST)、辣根过氧化物酶(HRP)、氯霉素乙酰转移酶(CAT)、 β -半乳糖苷酶、 β -葡萄糖醛酸糖苷酶、萤光素酶、绿色荧光蛋白(GFP)、HcRed、DsRed、青荧光蛋白(CFP)、黄色荧光蛋白(YFP)、以包括蓝色荧光蛋白(BFP)的自发荧光蛋白。

[0066] C2c2蛋白还可以融合一种蛋白质或蛋白质片段,所述蛋白质或蛋白质片段结合DNA分子或结合其他细胞分子,其包括,但不限于,麦芽糖结合蛋白(MBP)、S-tag、Lex A DNA结合结构域(DBD)融合物、GAL4DNA结合结构域融合物、以及单纯疱疹病毒(HSV)BP16蛋白融合物。在本发明一些实施例中,所述融合蛋白质为分子标记,使用标记的C2c2蛋白可用来鉴定靶序列的位置。

[0067] 术语“多肽”、“肽”和“蛋白质”在本文可互换地使用,是指具有任何长度的氨基酸的聚合物。该聚合物可以是直链或支链的,它可以包含修饰的氨基酸,并且它可以被非氨基酸中断。这些术语还涵盖已经被修饰的氨基酸聚合物;这些修饰例如二硫键形成、糖基化、脂化(lipidation)、乙酰化、磷酸化、或任何其他修饰,如与检测分子标记组分的结合。

[0068] 在本发明优选实施方式中,所述的第二调节元件为T7启动子。

[0069] 在本发明优选实施方式中,所述的第一或二调节元件还包括增强子、内部核糖体进入位点(IRES)、和其他表达控制元件(例如转录终止信号,如多聚腺苷酸化信号和多聚U序列)。这样的调节序列例如描述于戈德尔(Goeddel),《基因表达技术:酶学方法》(GENE EXPRESSION TECHNOLOGY:METHODS IN ENZYMOLOGY)185,学术出版社(Academic Press),圣地亚哥(San Diego),加利福尼亚州(1990)中。调节元件包括指导一个核苷酸序列在许多类型的宿主细胞中的组成型表达的那些序列以及指导该核苷酸序列只在某些宿主细胞中表达的那些序列(例如,组织特异型调节序列)。组织特异型启动子可主要指导在感兴趣的期望组织中的表达,所述组织例如肌肉、神经元、骨、皮肤、血液、特定的器官(例如肝脏、胰腺)、或特殊的细胞类型(例如淋巴细胞)。调节元件还可以时序依赖性方式(如以细胞周期依赖性 or 发育阶段依赖性方式)指导表达,该方式可以是或者可以不是组织或细胞类型特异性的。

[0070] 本发明第四方面提供了一种修饰与第一方面所述的靶核苷酸相关的序列的方法,所述方法包括递送包含1)及2)的组合物,使包含1)及2)的组合物与所述靶核苷酸及所述与靶核苷酸相关的序列接近:

[0071] 1)C2c2效应蛋白;

[0072] 2)一种或多种核酸,其中,所述一种或多种核酸包含至少一种如第一方面所述的gRNA序列;

[0073] 所述C2c2蛋白与gRNA结合形成CRISPR-C2c2复合物,并且当所述CRISPR-C2c2复合

物与第一方面所述的靶核苷酸结合时,所述CRISPR-C2c2复合物对所述靶核苷酸和/或与靶核苷酸相关的序列进行修饰。

[0074] 在本发明优选实施方式中,所述的修饰是引入断裂、切割或标记。

[0075] 本发明第四方面一实施例中,所述靶核苷酸包括第一方面所述的靶核苷酸(靶RNA)和/或报告RNA。

[0076] 在本发明一实施方式中,组分I进一步包括可操作地连接到该第一调节元件的两个或更多个编码gRNA的编码序列,当表达时,该两个或更多个gRNA中的每一个引导CRISPR-C2c2复合物与不同靶核苷酸序列特异性结合(该结合反应可发生在在宿主细胞中、体外转录/翻译系统中或其他本领域技术人员根据具体实验需求配置的反应溶液)。

[0077] 在本发明实施方式中,术语“使包含1)及2)的组合物与所述靶核苷酸及所述与报告RNA接近”是指将组分递送到离体(in vitro)或体内(in vivo)环境中,离体环境如本领域技术人员根据具体实验需求配置的反应溶液,体内环境比如细胞内;所述的术语“接近”是指在离体(in vitro)或体内(in vivo)环境中,各组分可以与所述靶核苷酸及所述与报告RNA的序列接触,并在一定的条件下发生本领域技术人员可以预料的反应。

[0078] 在本发明实施方式中,本发明提供了以下方法,包括向宿主细胞递送一个或多个多核苷酸、一个或多个载体、一个或多个转录本、和/或一个或多个转录的蛋白。在一些方面,本发明进一步提供了通过这样的方法产生的细胞以及包括这样的细胞或由这样的细胞产生的生物体(例如动物、植物、或真菌)。

[0079] 在本发明实施方式中,将与gRNA组合的CRISPR-C2c2复合物递送至细胞。可以使用常规的病毒和非病毒基的基因转移方法将核酸引入哺乳动物细胞或靶组织中。

[0080] 可以使用这样的方法向培养物中或宿主生物中的细胞给予编码CRISPR-C2c2系统的组分的核酸。非病毒载体递送系统包括DNA质粒、RNA(例如在此描述的载体的转录本)、裸核酸以及与递送赋形剂(如脂质体)复合的核酸。病毒载体递送系统包括DNA和RNA病毒,在被递送至细胞后它们具有游离型或整合型基因组。关于基因递送系统的综述,参见安德(Anderson),《科学》(Science)256:808-813(1992);纳贝尔(Nabel)&费尔格纳(Felgner),TIBTECH 11:211-217(1993);三谷(Mitani)&卡斯基(Caskey),TIBTECH 11:162-166(1993);狄龙(Dillon),TIBTECH 11:167-175(1993);米勒(Miller),《自然》(Nature)357:455-460(1992);范·布朗特(Van Brunt),《生物技术》(Biotechnology)6(10):1149-1154(1988);维涅(Vigne),《恢复神经学和神经科学》(Restorative Neurology and Neuroscience)8:35-36(1995);克雷默(Kremer)&佩里科德特(Perricaudet),《英国医学公报》(British Medical Bulletin)51(1):31-44(1995);哈塔塔(Haddada)等人,在《微生物学和免疫学当前主题》(Current Topics in Microbiology and Immunology)中多尔夫勒(Doerfler)和博姆(编辑)(1995);以及余(Yu)等人,《基因疗法》(Gene Therapy)1:13-26(1994)。

[0081] 核酸的非病毒递送方法包括脂转染、核转染、显微注射、基因枪、病毒颗粒、脂质体、免疫脂质体、聚阳离子或脂质:核酸共轭物、裸DNA、人工病毒体以及DNA的试剂增强性摄取。脂转染描述于例如美国专利号5,049,386、4,946,787和4,897,355中并且脂转染试剂是市售的(例如,TransfectamTM和LipofectinTM)。适于多核苷酸的有效的受体识别脂转染的阳离子和中性脂质包括Felgner(费尔格纳),WO 91/17424;WO 91/16024的那些。递送可以

针对细胞(例如体外或离体给予)或靶组织(例如体内给予)。

[0082] 脂质:核酸复合物(包括靶向的脂质体,如免疫脂质复合物)的制备是本领域的技术人员熟知的(参见例如,克丽丝特尔(Crystal),《科学》(Science)270:404-410(1995);布莱泽(Blaese)等人,《癌症基因疗法》(Cancer Gene Ther.)2:291-297(1995);贝尔(Behr)等人,《生物共轭化学》(Bioconjugate Chem.)5:382-389(1994);雷米(Remy)等人,《生物共轭化学》5:647-654(1994);高(Gao)等人,《基因疗法》(Gene Therapy)2:710-722(1995);艾哈迈德(Ahmad)等人,《癌症研究》(Cancer Res.)52:4817-4820(1992);美国专利号4,186,183、4,217,344、4,235,871、4,261,975、4,485,054、4,501,728、4,774,085、4,837,028以及4,946,787)。

[0083] 本发明第五方面提供了一种真核宿主细胞,包含组分I和/或组分II:

[0084] 所述组分I包括第一调节元件,以及与所述第一调节元件可操作地连接的编码C2c2蛋白的编码序列;所述组分II包括第二调节元件,以及与所述第二调节元件可操作地连接的编码gRNA的编码序列,其中,所述gRNA包含第一方面所述的gRNA序列;

[0085] 其中,组分I和II位于相同或不同载体上;

[0086] 所述C2c2蛋白与gRNA结合形成CRISPR-C2c2复合物,并且当所述CRISPR-C2c2复合物与第一方面所述的靶核苷酸结合时,所述CRISPR-C2c2复合物对所述靶核苷酸和/或与靶核苷酸相关的序列进行修饰。

[0087] 在本发明优选实施方式中,所述的修饰是引入断裂、切割或标记。

[0088] 本发明第五方面一实施例中,所述靶核苷酸包括第一方面所述的靶核苷酸(靶RNA)和/或报告RNA。

[0089] 在本发明一实施方式中,所述真核宿主细胞,包含组分I和组分II。

[0090] 在本发明一实施方式中,组分I进一步包括可操作地连接到该第一调节元件的两个或更多个编码gRNA的编码序列,当表达时,该两个或更多个gRNA中的每一个引导CRISPR-C2c2复合物在真核宿主细胞中与不同靶核苷酸序列特异性结合。

[0091] 本发明第六方面提供了一种检测试剂盒,包含第一方面提供的gRNA序列、第二方面提供的CRISPR-C2c2系统、第三方面提供的非天然存在的或工程化的组合物、第五方面提供的真核宿主细胞中的一种或多种。

[0092] 本发明一实施方式中,所述试剂盒还包括常规配套的反应试剂和/或反应设备。例如,试剂盒可以提供一种或多种反应或存储缓冲液。可以按在具体测定中可用的形式或按在使用之前需要添加一种或多种其他组分的形式(例如按浓缩或冻干形式)提供试剂。缓冲液可以是任何缓冲液,包括但不限于碳酸钠缓冲液、碳酸氢钠缓冲液、硼酸盐缓冲液、Tris缓冲液、MOPS缓冲液、HEPES缓冲液及其组合。在一些实施例中,该缓冲液是碱性的。在一些实施例中,该缓冲液具有从约7至约10的pH。在一些实施例中,该试剂盒包括一个或多个寡核苷酸,该一种或多种核酸包含至少一种gRNA,所述gRNA包含如第一方面所述的gRNA序列。

[0093] 本发明所述试剂盒中的各组分可以单独地或组合地提供,并且可以被提供于任何适合的容器中,如小瓶、瓶子、管或纸板。

[0094] 本发明第七方面提供了一种基于CRISPR-C2c2系统的病原体基因的检测方法,包含:

[0095] 1) 制备或提供待测样品,其中,所述待测样品包括DNA和/或RNA;

[0096] 2) 提供包含a)、b)、及c)的组合物,组分a)包括C2c2效应蛋白;组分b)包括一种或多种核酸,其中,所述一种或多种核酸包含至少一种gRNA,所述gRNA包含第一方面所述的gRNA序列;组分c)包括修饰有分子检测标记的报告RNA;

[0097] 3) 反应体系中,使包含a) b) c)的组合物与所述待测样品接触,所述C2c2蛋白与gRNA结合形成CRISPR-C2c2复合物,所述CRISPR-C2c2复合物与所述的靶核苷酸结合,并对所述修饰有分子检测标记的报告RNA进行剪切,产生可被检测的分子检测标记;

[0098] 4) 检测所述分子检测标记,获得检测结果。

[0099] 本发明一实施方式中,所述靶核苷酸为连接有T7启动子的DNA片段经T7聚合酶转录获得的RNA。

[0100] 可选地,所述DNA片段经提取或纯化获得,并修饰有T7启动子。可选地,所述提取或纯化的DNA片段经过PCR扩增、NASBA等温扩增或重组酶聚合酶RPA扩增处理,并修饰有T7启动子。

[0101] 本发明一实施方式中,所述反应体系包括Cas13a检测体系。在本发明一具体实施例中,所述的Cas13a检测体系包括:45nM纯化的LwCas13a,22.5nM gRNA,125nM在LwCas13a切割时可发出荧光的报告RNA链(RNase Alert v2,Thermo Scientific),2 μ L小鼠源RNase抑制剂(New England Biolabs),100ng总人源RNA(纯化自HEK293FT培养基),不同数量的靶核酸,及核酸酶检测缓冲液(40mM Tris-HCl,60mM NaCl,6mM MgCl₂,pH 7.3)。

[0102] 本发明一实施方式中,所述反应体系包括RPA-DNA扩增体系、T7聚合酶将DNA转录为RNA反应体系和Cas13a检测体系。在本发明一具体实施例中,所述的反应体系(50 μ L体系)包括:0.48 μ M正向引物,0.48 μ M反向引物,1x RPA补液缓冲液,不同量的DNA,45nM LwCas13a重组蛋白,22.5nM gRNA,250ng总人RNA,200nM RNA报告子(RNase alert v2),4 μ L鼠源RNase抑制剂(New England Biolabs),2mM ATP,2mM GTP,2mM UTP,2mM CTP,1 μ LT7聚合酶混合物(New England Biolabs),5mMMgCl₂和14mM MgAc。

[0103] 本发明第八方面提供了一种基于CRISPR-C2c2系统的病原体基因的检测试剂盒,包括第一方面提供的gRNA序列、第二方面提供的CRISPR-C2c2系统、第三方面提供的非天然存在的或工程化的组合物、第五方面提供的真核宿主细胞中的一种或多种。

[0104] 本发明一实施方式中,所述第八方面提供的试剂盒还包括:PCR扩增、NASBA等温扩增或重组酶聚合酶RPA、环介导等温扩增(LAMP)、链置换扩增(SDA)、解旋酶依赖性扩增(HDA)和切口酶扩增反应(NEAR)中的一种或多种试剂。

[0105] 本发明一实施方式中,所述第八方面提供的试剂盒还包括T7聚合酶。

[0106] 本发明第九方面提供了一种如第一方面所述gRNA序列的应用,包括:

[0107] (i) 与C2c2形成复合物,结合分子标记技术,如荧光标记技术,显现与所述gRNA序列特异性结合的目标RNA在胞内的运输和/或定位;

[0108] (ii) 与C2c2形成复合物,捕获特异性转录物,所述特异性转录物与所述gRNA序列特异性结合(通过dC2c2的直接下拉或使用dC2c2将生物素连接酶活性定位到特定转录物)。

附图说明

[0109] 图1-图9为本发明实施例提供的SEQ ID NO.1-874所示各gRNA序列靶向目标基因的荧光检测结果。

具体实施方式

[0110] 以下所述是本发明实施例的优选实施方式,应当指出,对于本技术领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明实施例原理的前提下,还可以做出若干改进和润饰,这些改进和润饰也视为本发明实施例的保护范围。

[0111] 若无特别说明,本发明实施例中所用试剂及耗材均为市售商品。

[0112] 除非另有说明,本发明的实践采用免疫学、生物化学、化学、分子生物学、微生物学、细胞生物学、基因组学和重组DNA的常规技术,这些在本领域的技能之内。参见萨姆布鲁克(Sambrook)、弗里奇(Fritsch)和马尼亚蒂斯(Maniatis),《分子克隆:实验室手册》(MOLECULAR CLONING:A LABORATORY MANUAL),第2次编辑(1989);《当代分子生物学实验手册》(CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY)(F.M.奥苏贝尔(F.M.Ausubel)等人编辑,(1987));《酶学方法》(METHODS IN ENZYMOLOGY)系列(学术出版公司):《PCR2:实用方法》(PCR 2:A PRACTICAL APPROACH)(M.J.麦克弗森(M.J.MacPherson)、B.D.黑姆斯(B.D.Hames)和G.R.泰勒(G.R.Taylor)编辑(1995))、哈洛(Harlow)和拉内(Lane)编辑(1988)《抗体:实验室手册》(ANTIBODIES,A LABORATORY MANUAL),以及《动物细胞培养》(ANIMAL CELL CULTURE)(R.I.弗雷谢尼(R.I.Freshney)编辑(1987))。

[0113] 本发明一具体实施方式中,本发明实施例提供了一种用于靶向病原体基因RNA的gRNA。本发明实施例还提供了一种基于C2c2的病原体基因的检测方法、检测试剂盒,并将2017年4月13日,Science杂志发表一项题为“Nucleic acid detection with CRISPR-Cas13a”文章(后续称为“文献1”)公开的实验方法中的一个或多个步骤通过引用并入本实施方式。包括但不限于如下步骤的一个或多个步骤:

[0114] 一、Cas13a(即C2c2)基因克隆及蛋白表达

[0115] 采用源自Leptotrichia wadei F0279和Leptotrichia shahii的Cas13a蛋白基因,经过密码子优化,使基因更适合在哺乳动物细胞中表达。优化后的Cas13a蛋白基因克隆入pACYC184骨架(该骨架包括由J23119启动子驱动表达的间隔序列,所述间隔序列为 β -内酰胺酶靶向或非靶向间隔区)。

[0116] 经过密码子优化的Cas13a蛋白基因克隆到原核表达质粒载体,所述原核表达质粒载体可采用带6-His组氨酸标签的pET质粒,方便蛋白纯化表达。表达菌采用Rosetta2(DE3)。

[0117] 本发明实施例所采用质粒包括:

[0118] pC004质粒图谱:<https://benchling.com/s/1PJ1cCwR>(即带 β -内酰胺酶扫描位点的pACYC184)

[0119] pC009质粒图谱:<https://benchling.com/s/seq-y1kMuglYmiG4A3VhShZg>(LshCas13a基因插入带 β -内酰胺酶扫描位点的pACYC184质粒)

[0120] pC010质粒图谱:<https://benchling.com/s/seq-2WApFr3zni1G0ACyQY8a>(LshCas13a基因插入不带 β -内酰胺酶扫描位点的pACYC184质粒)

[0121] pC011质粒图谱:<https://benchling.com/s/seq-2WApFr3zni1G0ACyQY8a>(LwCas13a基因插入带 β -内酰胺酶扫描位点的pACYC184质粒)

[0122] pC012质粒图谱:<https://benchling.com/s/seq-2WApFr3zni1G0ACyQY8a>(LwCas13a基因插入不带 β -内酰胺酶扫描位点的pACYC184质粒)

[0123] pC013质粒图谱:<https://benchling.com/s/seq-2WApFr3zni1GOACyQY8a> (LwCas13a基因插入带Twin-Strep标签的pACYC184质粒)

[0124] 将Cas13a蛋白重组表达载体转化后,进行蛋白表达、SDS-PAGE检测以及凝胶柱纯化,获得的纯化后的Cas13a蛋白放-80℃保存。

[0125] 二、靶RNA的制备gRNA制备靶核苷酸:

[0126] 提取

[0127] 靶核苷酸经过PCR扩增、重组酶聚合酶扩增(RPA),NASBA等温扩增或、环介导等温扩增(LAMP)、链置换扩增(SDA)、解旋酶依赖性扩增(HDA)和切口酶扩增反应(NEAR)方式扩增靶DNA。胶分离以及纯化(采用MinElute gel extraction kit(Qiagen)试剂盒),纯化后的dsDNA与T7聚合酶30℃孵育过夜(采用HiScribe T7 Quick High Yield RNA Synthesis kit(New England Biolabs)试剂盒),然后用MEGAclear Transcription Clean-up kit(Thermo Fisher)试剂盒纯化RNA,从而获得靶核RNA。

[0128] NASBA等温扩增

[0129] 4℃下,配置扩增体系如下:

[0130]	反应缓冲液(Life Sciences, NECB-24)	6.7μL
	核苷酸混合物 (Life Sciences, NECN-24)	3.3μL
	RNA或对照(水)	4μL
[0131]	RNase 抑制剂(Roche, 03335402001)	0.1μL
	NASBA 引物 (12.5uM)	0.4μL
	nuclease-free水	0.5μL

[0132] 上述混合体系在65℃条件下放置2min;然后41℃下,2分钟;

[0133] 上述混合体系中再加入5u1酶混合物(Life Sciences,NEC-1-24),获得20μL总反应体系。65℃条件下反应2小时。

[0134] 重组酶聚合酶扩增RPA(Recombinase Polymerase Amplification)

[0135] 采用NCBI Primer blast设计RPA引物,扩增片段大小为80-180nt,引物的变性温度可为54-67℃、0pt=60,长度为30-35nt、0pt=32,引物中GC含量为40-60%,根据设计序列合成DNA引物。

[0136] 分别参考TwistAmp®Basic和TwistAmp®BasicRT(TwistDx)试剂盒进行RPA反应,不同的是,在模板片段加入之前,先加入280mM的MgAc,即乙酸镁。在37℃下反应2小时。

[0137] 三、gRNA的制备

[0138] 制备gRNA:参照HiScribeT7Quick High Yield RNA Synthesis kit(New England Biolabs)试剂盒说明书,将带T7启动子的DNA片段、T7引物、T7聚合酶混合,37℃孵育过夜;再采用RNAXP clean beads(Beckman Coulter)试剂盒纯化,获得纯化的gRNAs。

[0139] 四、检测病原体基因

[0140] 病原体基因检测体系包括:45nM纯化的LwCas13a,22.5nM gRNA,125nM在LwCas13a切割时可发出荧光的报告RNA链(RNase Alert v2,Thermo Scientific),2μl小鼠源RNase抑制剂(New England Biolabs),靶RNA,及核酸酶检测缓冲液(40mM Tris-HCl,60mM NaCl,6mM MgCl₂,pH 7.3)。反应体系置于荧光分析仪(BioTek),在37℃(除非另有说明)下反应

1-3小时,荧光动力检测5分钟一次。

[0141] 五、SHERLOCK(Specific High Sensitivity Enzymatic Reporter UnLOCKing)一步法检测病原体基因

[0142] 可选地,前述的DNA扩增、T7聚合酶将DNA转录为RNA、以及Cas13a检测体系可以配置到同一个体系中反应。可选地,该一体化体系配置包括:

[0143] 50 μ L体系中:

[0144] 0.48 μ M正向引物,0.48 μ M反向引物,1x RPA补液缓冲液,不同量的DNA,45nM LwCas13a重组蛋白,22.5nM gRNA,250ng总人RNA,200nM RNA报告子(RNase alert v2),4 μ l鼠源RNase抑制剂(New England Biolabs),2mM ATP,2mM GTP,2mM UTP,2mM CTP,1 μ l T7聚合酶混合物(New England Biolabs),5mM MgCl₂和14mM MgAc。反应体系置于荧光分析仪(BioTek),在37 $^{\circ}$ C(除非另有说明)下反应1-3小时,荧光动力检测5分钟一次。

[0145] 六、SHERLOCK(Specific High Sensitivity Enzymatic Reporter UnLOCKing)冷冻干燥和纸张沉积

[0146] 将玻璃纤维滤纸(Whatman,1827-021)高压灭菌90分钟(Consolidated Stills和杀菌剂,MKII)并在5%无核酸酶的BSA(EMD Millipore,126609-10GM)中封闭,过夜。用无核酸酶的水(Life technologies,AM9932)清洗纸一次后,通过用4%RNasecureTM(Life technologies,AM7006)孵育(60 $^{\circ}$ C)除去核糖核酸酶20分钟,用无核酸酶的水冲洗纸3次以除去RNasecure的痕迹。处理纸使用前,先在80 $^{\circ}$ C下在热板上干燥20分钟(Cole-Parmer,IKA C-Mag HS7)。将1.8 μ LCas13a反应混合物(如前所述)放置在黑色,透明底部384孔板(Corning,3544)中的盘(2mm)上。对于将SHERLOCK的冷冻干燥试验,含有反应混合物盘的板快速冷冻在液氮中,如前所述,冷冻干燥过夜。RPA样品在无核酸酶的水中稀释1:10,并将1.8 μ L的混合物装载到纸盘上并使用孔板检测仪(plate reader,BioTek Neo)在37 $^{\circ}$ C下孵育。

[0147] 七、分析SHERLOCK荧光数据

[0148] 为了计算去除背景的荧光数据,方便不同条件之间的比较,样品的初始荧光被去除。背景荧光(无靶核苷酸或无gRNA的条件下)会从样品中去除,从而获得扣除背景荧光的数据。

[0149] 本领域技术人员可以理解的是,可以采用本领域常规的替代方法替换本发明实施例中常规的Cas13a基因的克隆、重组表达载体的构建、Cas13a蛋白的表达及纯化、靶核苷酸/目标基因片段的扩增等步骤中的一种或多种,以期获得类似或等同的效果。

[0150] 本领域技术人员可以理解的是,正如文献1公开的:针对不同的靶核苷酸,gRNA以及Protospacer flanking site(PFS)的序列非常重要。PFS是靶标位点附近存在的特异性基序,是Cas13a的强核糖核酸酶活性所必需的。尽管这种基序类似于PAM序列,PAM是DNA靶向的第二类crispr-cas体系的重要序列,但PFS与PAM在功能上是不同的,因为PFS不参与阻止内源性系统中CRISPR基因座的自我靶向。PFS对Cas13a的重要性:比如gRNA靶复合体的形成和切割活性中的影响需要未来更多的研究。

[0151] 本发明实施例提供的用于靶向病原体基因RNA的gRNA、基于C2c2的病原体基因的检测方法、检测试剂盒检测的病原体基因包括但不限于表1所示病原体基因。

[0152] 本发明实施例中,表1、2、3中各碱基的大小写没有特殊含义。本领域技术人员可以

理解的是,本发明实施例表1-5中各碱基的大小可以由大写变为小写或小写变为大小,含义不变。

[0153] 本发明实施例中,各病原体基因包含的靶核苷酸序列如表1所示:

[0154] 表1.各病原体基因包含的靶核苷酸序列

待测病原体基因	待测病原体基因包含的靶核苷酸(5'-3')	抗性/功能描述	SEQ ID NO.
[0155] intI1	5' - CCAGTGGACATAAGCCTGTTTCGGTTCGTAACTGTAATGCAAGTAGC-3'	整合酶类	1
intI2	5' -GGGCATTTAAAGCGATTTTCTGCGTGTATGGCTACATGTCTG-3'	整合酶类	2
tetM	5' -AGTGGAAAATACGAAGGTGAACATCATAGACACGCCAGGACA-3'	四环素耐药, GTP 水解酶	3

[0156]

aac(3)-I	5' -GGTGCTTATGTGATCTACGTGCAAGCAGATTACGGTGACGATC-3'	氨基糖苷类药物耐药	4
aac(3)-II	5' -GTCGAAACTATAGCAAATGCTTACGTGAAGCTCGGTCCGCAT-3'	氨基糖苷类药物耐药	5
aac(3)-III	5' -TGGCTAAACTGGTGGCAATAGAAGGATACGTGCTGATGCTTG-3'	氨基糖苷类药物耐药	6
aac(3)-IV	5' -CTCAAGGAGAAGACCTTCAGAAGGAAGGTCCAGTCCGGTCAT-3'	氨基糖苷类药物耐药	7
aac(6')-I	5' -ACTTGCTGACGTACAGGAACAGTACTTGCAGCGTTTACGG-3'	氨基糖苷类药物耐药	8
aac(6')-II	5' -GGTGGGAAGATGAAACTGATCCAGGAGTCCGAGGAATAGACC-3'	氨基糖苷类药物耐药	9
aphA6	5' -TTGCCAATATTATTCAACAATTTATCGGAAACAGCGTTTTAGAGCCA-3'	氨基糖苷类药物耐药	10
ant(3')-I	5' -TTGATCCGGTTCCTGAACAGGATCTATTGAGCGCTAAATG-3'	氨基糖苷类药物耐药	11
ant(2'')-I	5' -TACAAAGCACATAGAGTCCTACAGGCTCGCATGCACCTCACTC-3'	氨基糖苷类药物耐药	12
qacA/B	5' -GATTTAGCTCATGTAGCTGAAGAATCTGTAGTGGGCGCTGTCGAA-3'	耐消毒剂	13
ErmA	5' -GATCCCTACGGCATCACCTCCGCCATCGTCGACTGGT-3'	红霉素耐药	14
ErmB	5' -TTGAAAGCCATGCGTCTGACATCTATCTGATTGTGAAGAAGGATTC-3'	红霉素耐药	15
ErmC	5' -CGTGAATACGGGTTTGTAAAAGATTATTAATACAAAACGCTCATTGGC-3'	红霉素耐药	16
mefA	5' -TACCCAGCACTCAATGCGGTTACACCCTTTTAGTACCAGAAGAA-3'	大环内酯外排	17
VanA	5' -AAAATCTTAATTAGCAGGCTGTTTGGCGTGTGAGGTCGGT-3'	万古霉素耐药	18
VanB	5' -ACGGAAGAAGCTTAACGCTGCGATAGAAGCGGAGGACAATAT-3'	万古霉素耐药	19
VanC1	5' -CTTGAACATGAACCTGCCTTATGTTGGTGGCCATGTCGCTG-3'	万古霉素耐药	20
VanC2	5' -AAATCAATACTATGCCGGGTTTACGAGTCACTCCGCTATCC-3'	万古霉素耐药	21
VanD	5' -AGGAACATGATGTTTCAAGTAAAATCTGGGATGGAGGTTGCA-3'	万古霉素耐药	22
VanE	5' -CATGGAGGTTATGGTGAGAATGGTGCTATGCAGGGAGTATTTGAG-3'	万古霉素耐药	23
AcrAB-TolC	5' -GCAGAAGTTCGTCCTCAAGTTAGCGGGATTATCCTGAAGCGT-3'	多药耐药外排泵	24
OprM	5' -CCAAAAGAGGCGGGATAGGCTAGAGCCCTATAGCACTAGG-3'	多药耐药外排泵	25
SmeDEF	5' -AGTACCGATGGAAGTGATCCCATGAAAAGTGCATCCCTGTT-3'	多药耐药外排泵	26
ileS	5' -GAGCCGATTCTTTAAGATGGCCCTAATTTTCGATAGTGCTCCA-3'	莫匹罗星耐药	27
dfrA	5' -GGAAACCATTGCCAAATAGACGTAACGTCGTTCTCACTAACCAAGCT-3'	磺胺类耐药	28
dfrD	5' -TTGTTGCGATGGATAAGAAAAGAGTAATCGGCAAGGATAACGACATTC-3'	磺胺类耐药	29
t1rB	5' -CTACGGTCAATGCGGAAGAAGCTGTCGCGATATCTGCGCTGC-3'	泰洛星耐药	30
norA	5' -TCCTCAGAAAGCACTACTGATGGATTCCACCAATATCAACCTGAA-3'	氟喹诺酮耐药	31
TEM	5' -TTATCTACACGACGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAA-3'	beta 内酰胺酶类耐药	32
SHV	5' -TAACAAAGCAGAGCGCATCGTGGTATTATCTGCGGATA-3'	beta 内酰胺酶类耐药	33
CTX-M1	5' -ATGAGACGTTTCTGCTGGATCGCAGTGAACCTACGCTGAATA-3'	beta 内酰胺酶类耐药	34
CTX-M2	5' -AAGAAGAGCGACCTGGTTAACTACAATCCATTGCGGAGAAAACA-3'	beta 内酰胺酶类耐药	35
CTX-M3	5' -GCGGTGCTGAAGAAAAGTGAAGCGCAACCGAATCTGTTAAATC-3'	beta 内酰胺酶类耐药	36
PER	5' -CGGCCACTAATGATTTAGGTATCATTCTGTTGCCTGATGGACG-3'	beta 内酰胺酶类耐药	37
VEB	5' -AGATTACCCCTCAAGACCTTTTGCCTAAAACGTTGGAGTCCGATAAA-3'	beta 内酰胺酶类耐药	38
AmpC	5' -AGCATCCAGCCGTGCTCAAGGAGCACAGGATC-3'	头孢菌素耐药	39
IMP	5' -CACTCCATTTACGGCTAAAGATACTGAAAAGTTAGTCACTTGGTTTGTGG-3'	碳青霉烯酶耐药	40
IMP1	5' -CATTTTCATAGCGACAGCACGGGGGAATAGAGTGGCTTAAT-3'	碳青霉烯酶耐药	41
OXA23	5' -TTAAAATGTTGAATGCCCTGATCGGATTGGAGAACCAGAAAAGC-3'	碳青霉烯酶耐药	42
OXA24	5' -AATGGGTGTTACTCCACAGGTAGTTGGTTGACTGTTGGGT-3'	碳青霉烯酶耐药	43
VIM	5' -GTGATGGTATGAGTTGCTTTTGGATTATACAGCGTGGGGTG-3'	碳青霉烯酶耐药	44
GES2	5' -CTGCGTGCAGCTTAGCGACAATGGGGCTACTAACCTCTTAC-3'	碳青霉烯酶耐药	45
mecA	5' -GAACTCAAAATGAAACAAGGAGAACTGGCAGACAAAATGGGTGG-3'	金黄色葡萄球菌耐药	46
Cat	5' -CCTTGACGCTTCATCATGCTGTATGTGATGGTTACCATGCTTC-3'	氯霉素酰基转移酶基因	47
Zeocin	5' -GAGCTGTACGCCAGTGGTCGGAGTCTGTCCACGAACTT-3'	博来霉素基因	48
Bsr	5' -CCATTCATCTCAATGAGCACAAGCAGTCAGGAGCATAGTCAGA-3'	杀稻瘟菌基因	49
Puromycin	5' -GCCACATCGAGCGGGTCACCGAGCTGCAAGAAGCTTCTCT-3'	嘌呤霉素基因	50
Kana	5' -GAATGAATAACGGTTTGGTTGATGCGAGTGATTTGATGACGAG-3'	卡那霉素基因	51
Tet	5' -CACCGTCACCTGGATGCTGTAGGCATAGGCTTGG-3'	氨基糖苷类耐药	52
Amp	5' -CACGACGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGA-3'	四环素基因	53
PME	5' -GCGAATGGATGGTTGAAAACGGGCTTGTTCGCGCATCAG-3'	超广谱 beta-内酰胺酶耐药基因	54

幽门螺杆菌 23S rRNA	5' -GTCGGTTAAATACCGACCTGCATGAATGGCGTAACGAGATGGGAGCTGTC TCAACCAGAGATTTCAGTGAAATTGTAGTGGAGGTGAAAATTCCTCCTACCCGG GCAAGACGGAAAGACCCCGTGACCTTTACTACAACCTAGCACTGCTAATGGGA ATATCATGCGCAGGATAGGTGGGAGGCTTTGAAAGTAAGGGCTTTGGCTCTATG GAGCCATCCTTGAGATACCACCTTGAT-3'	55
鼻疽伯克霍尔德氏菌 和类鼻疽伯克霍尔德 氏菌特异性结构基 因 16S rDNA	5' -GGAGTACGGTCGCAAGATTAAGTCAAAGGAATTGACGGGG-3'	56
鼻疽伯克霍尔德氏菌 和类鼻疽伯克霍尔德 氏菌特异性结构基 因 毒力基因 flagellin C	5' -TCAACAGCAACATTAACCTCGTTGGTCGCTCAACAGAA CCTCA-3'	57
布鲁氏菌 16S ribosomal 特异序列	5' -CGCCTGGGAGTACGGTCGCAAGATTAAGTCAAAGGA AT-3'	58
布鲁氏菌热休克 蛋白 31KD 基因	5' -CGTAAGGATGCAACATCAAAATCGGTCGACAGCTGAAAAG-3'	59
沙门氏菌 hilA	5' -GCCGCAACCTACGACTCATACATTGGCGATACTTCCTTTTCA-3'	60
沙门氏菌 invA	5' -TTGGTGTATTGGGGTCGTTCTACATTGACAGAACTCCTCAGTTT TTCA-3'	61
鼠疫耶尔森菌 3a	5' -TTGTATGGCAGCGACAGAACTTAGCAGTGAGACTGGAAGC-3'	62
鼠疫耶尔森菌 caf1	5' -GGTACGCTTACTCTTGGCGGCTATAAAACAGGAACCACTAGCAC A-3'	63
炭疽芽孢杆菌 EF	5' -GTGGCTACAAAGGATTGAATGTTCTGAAAAGAGTTCGGATTG-3'	64
炭疽芽孢杆菌 pX02	5' -AACTTAGAAGGCTGGTCAACAAGTGAATATGTCTCGTATGCG TCCA-3'	65
土拉弗朗西斯菌 Francisella	5' -TGGTCTTACAACATCTCAAGGAAGCTTGCCA GTATGTTGCGC-3'	66
土拉弗朗西斯菌 FopA	5' -CAACAGGTGCTTGGGATGTTGGTGGTCTTAAGTTTGAAC T-3'	67
志贺菌属和侵袭性大 肠埃希菌 ipaH	5' -GCCCGCAGATTTACTTCTCCATGAGTGACGGACAACAGAATAC-3'	68
志贺菌属和侵袭性大 肠埃希菌 ipaC	5' -CAAGTAGGTATAAAGGGTATCGGTGCCAAAAAACGCATTCAAG-3'	69
霍乱弧菌 ompW	5' -CGCTTGCTATATGTTTACTGACAACATCAGTTTTGAAGTCCTC GCTC-3'	70
霍乱弧菌 CtxA	5' -GATATTGCTCCAGCAGCAGATGGTTATGGATTGGCAGGTTTC-3'	71
白喉毒素 DTA	5' -TCAAAGTGAGTATCCAGGACTGACGAAGGTTCTCGCACTAAAA-3'	72
I 型痢疾志贺菌 ShT	5' -GATTTAATGTCGCATAGTGGAACTCACTGACGCAGTCTGTGG-3'	73
肉毒毒素 BoNT	5' -TTGAGGAGTCACTTGAAGTTGATACAAAATCCTCTTTAGGTGCA GGCA-3'	74
肉毒毒素 B 型基因	5' -TGGAGGGCAAGATCCCAGCATCATAAGTCTCTACGGATAAA-3'	75
肉毒毒素 E 型基因	5' -AGCAATGGATGTTTTTGAACCTTATTCTGAAGAACATGGATGG CAA-3'	76
肉毒毒素 F 型基因	5' -CGTCTTTAATGAAGCCGGTGGATCAAAAATCACTAGGATTCGTTC C-3'	77
蓖麻毒素 RTA 基因	5' -ACGAGAATTAGGTACAACCGAGATCTGCACCAGATCCTAGCG-3'	78
破伤风毒素 C 片段	5' -ATCCAATAAGTGCTGAAGAACTATTCACTTTTGGCGGACAGGATGC-3'	79
产肠毒素性葡萄球菌 SEC2 基因	5' -TTTTGGTATGATATGATGCCTGCACCAGGCGATAAGTTTGACC-3'	80
产肠毒素性葡萄球菌 SEB 基因	5' -ACCAGATGAGTTGCACAAATCGAGTAAATCACTGGTTTGTGGA A-3'	81
产肠毒素性葡萄球菌 SED 基因	5' -AAAATGTTACCGTACAAGAATTAGATGCACAAGCAAGGCGCTATT TGC-3'	82
产肠毒素性葡萄球菌 SEA 基因	5' -TATGGTGCTTATTATGGTTATCAATGTGCGGGTGTACACCAAAC A-3'	83
产肠毒素性葡萄球菌 SEE 基因	5' -TCATAACTACCGTGGACCTTCAGAAGAATGAAACACAATCAAG CC-3'	84

[0158] 本发明实施例中,针对表1中所示的每一条靶核苷酸序列提供了特异性识别所述靶基因的一条或多条gRNA序列,如下表2-5所示:

[0159] 表2.特异性识别表1中靶基因对应的RNA的一条或多条gRNA序列

[0160]

下表为常见病原体抗性基因和特异基因序列					
基因	SEQ ID NO.	靶基因序列	抗性	SEQ ID NO.	gRNA1
intI1	1	5' - CCAGTGGACATAAGCCTGTTCCGTTTCGTA GGTTCGTAAGCTGTAATGCAAGTAGC-3'	整合酶类	85	CCAGTGGACATAAGCCTGTTCCGTTTCGTT
				86	CAGTGGACATAAGCCTGTTCCGTTTCGTA
				87	AGTGGACATAAGCCTGTTCCGTTTCGTAA
				88	GTTGGACATAAGCCTGTTCCGTTTCGTA
				89	TGGACATAAGCCTGTTCCGTTTCGTA
				90	GACATAAGCCTGTTCCGTTTCGTA
				91	ACATAAGCCTGTTCCGTTTCGTA
				92	CATAAGCCTGTTCCGTTTCGTA
				93	ATAAGCCTGTTCCGTTTCGTA
				94	AAGCCTGTTCCGTTTCGTA
intI2	2	5' -GGGCATTTAAAGCGATTTCTGCGTGT TTCTGCGTGTATGGCTACATGCTG-3'	整合酶类	95	GGGCATTTAAAGCGATTTCTGCGTGT
				96	GGCATTTAAAGCGATTTCTGCGTGT
				97	GCATTTAAAGCGATTTCTGCGTGT
				98	TTTAAAGCGATTTCTGCGTGT
				99	TTAAAGCGATTTCTGCGTGT
				100	TAAAGCGATTTCTGCGTGT
				101	AAAGCGATTTCTGCGTGT
				102	AAGCGATTTCTGCGTGT
				103	AGCGATTTCTGCGTGT
				104	CGATTTCTGCGTGT
tetM	3	5' -AGTGGGAAAATACGAAGGTGAACATCATAGACACGCCA GGACA-3'	四环素耐药, GTP 水解酶	105	AGTGGGAAAATACGAAGGTGAACATCAT
				106	TGGGAAAATACGAAGGTGAACATCATAG
				107	GGGAAAATACGAAGGTGAACATCATAGA
				108	GAAAATACGAAGGTGAACATCATAGAC
				109	GAAAATACGAAGGTGAACATCATAGACA
				110	AAATACGAAGGTGAACATCATAGACACG
				111	AATACGAAGGTGAACATCATAGACACGC
				112	ATACGAAGGTGAACATCATAGACACGCC
				113	CGAAGGTGAACATCATAGACACGCCAGG
				114	GAAGGTGAACATCATAGACACGCCAGGA
aac(3)-I	4	5' -GGTGCTTATGTGATCTACGTGCAAGCAG CGTGCAAGCAGATTACGGTGAACGATC-3'	氨基糖苷类药 物耐药	115	GGTGCTTATGTGATCTACGTGCAAGCAG
				116	GTGCTTATGTGATCTACGTGCAAGCAGA
				117	TGCTTATGTGATCTACGTGCAAGCAGAT
				118	GCTTATGTGATCTACGTGCAAGCAGATT
				119	CTTATGTGATCTACGTGCAAGCAGATTA
				120	ATGTGATCTACGTGCAAGCAGATTACGG
				121	GTGATCTACGTGCAAGCAGATTACGGTG
				122	TGATCTACGTGCAAGCAGATTACGGTGA
				123	ATCTACGTGCAAGCAGATTACGGTGACG
				124	TCTACGTGCAAGCAGATTACGGTGACGA
aac(3)-I I	5	5' -GTCGAAACTATAGCAAAATGCTTACGTGA TGCTTACGTGAAGCTCGGTCCAT-3'	氨基糖苷类药 物耐药	125	GTCGAAACTATAGCAAAATGCTTACGTGA
				126	CGAAACTATAGCAAAATGCTTACGTGAAG
				127	GAAACTATAGCAAAATGCTTACGTGAAGC
				128	AAACTATAGCAAAATGCTTACGTGAAGCT

[0161]

				129	CTATAGCAAATGCTTACGTGAAGCTCGG
				130	TATAGCAAATGCTTACGTGAAGCTCGGT
				131	TAGCAAATGCTTACGTGAAGCTCGGTCG
				132	AGCAAATGCTTACGTGAAGCTCGGTCGC
				133	GCAAATGCTTACGTGAAGCTCGGTCGCC
				134	CAAATGCTTACGTGAAGCTCGGTCGCCA
aac(3)-I II	6	5' -TGGCTAACTGGTGGCA ATAGAAGGATACGTGCTGATG CTTG-3'	氨基糖苷类药 物耐药	135	TGGCTAACTGGTGGCAATAGAAGGATA
				136	GCTAACTGGTGGCAATAGAAGGATACG
				137	TAACTGGTGGCAATAGAAGGATACGTG
				138	AACTGGTGGCAATAGAAGGATACGTGC
				139	ACTGGTGGCAATAGAAGGATACGTGCTG
				140	CTGGTGGCAATAGAAGGATACGTGCTGA
				141	GGTGGCAATAGAAGGATACGTGCTGATG
				142	GTGGCAATAGAAGGATACGTGCTGATGC
				143	TGGCAATAGAAGGATACGTGCTGATGCT
				144	TCAAGGAGAAGAGCCTTCAGAAGGAAGG
aac(3)-I V	7	5' -CTCAAGGAGAAGAGCCT TCAGAAGGAGGTCCAGTCGG TCAT-3'	氨基糖苷类药 物耐药	145	CAAGGAGAAGAGCCTTCAGAAGGAAGGT
				146	AAGGAGAAGAGCCTTCAGAAGGAAGGTC
				147	AGGAGAAGAGCCTTCAGAAGGAAGGTCC
				148	GAGAAGAGCCTTCAGAAGGAAGGTCCAG
				149	AGAAGAGCCTTCAGAAGGAAGGTCCAGT
				150	AGAGCCTTCAGAAGGAAGGTCCAGTCGG
				151	GAGCCTTCAGAAGGAAGGTCCAGTCGGT
				152	AGCCTTCAGAAGGAAGGTCCAGTCGGTC
				153	GCCTTCAGAAGGAAGGTCCAGTCGGTCA
				154	ACTTGCTGACGTACAGGAACAGTACTTG
aac(6') -I	8	5' -ACTTGCTGACGTACAGG AACAGTACTTGCCAAGCGTTT TAGCG-3'	氨基糖苷类药 物耐药	155	CTTGCTGACGTACAGGAACAGTACTTGC
				156	TTGCTGACGTACAGGAACAGTACTTGCC
				157	TGCTGACGTACAGGAACAGTACTTGCCA
				158	CTGACGTACAGGAACAGTACTTGCCAAG
				159	GACGTACAGGAACAGTACTTGCCAAGCG
				160	ACGTACAGGAACAGTACTTGCCAAGCGT
				161	CGTACAGGAACAGTACTTGCCAAGCGTT
				162	GTACAGGAACAGTACTTGCCAAGCGTTT
				163	TACAGGAACAGTACTTGCCAAGCGTTTT
				164	GTGGGAAGATGAACTGATCCAGGAGTG
aac(6') -II	9	5' -GGTGGGAAGATGAAACT GATCCAGGAGTGCAGGAATA GACC-3'	氨基糖苷类药 物耐药	165	GGGAAGATGAACTGATCCAGGAGTGCG
				166	AAGATGAACTGATCCAGGAGTGCAGAGG
				167	AGATGAACTGATCCAGGAGTGCAGAGGA
				168	GATGAACTGATCCAGGAGTGCAGAGGAA
				169	ATGAACTGATCCAGGAGTGCAGAGGAAT
				170	GAACTGATCCAGGAGTGCAGAGGAATAG
				171	AACTGATCCAGGAGTGCAGAGGAATAGA
				172	AACTGATCCAGGAGTGCAGAGGAATAGAC
				173	TGCCCAATATTATTCAACAATTTATCGG
				aphA6	10
175	CCCAATATTATTCAACAATTTATCGGAA				
176	CCAATATTATTCAACAATTTATCGGAAA				
177	CAATATTATTCAACAATTTATCGGAAAC				
178	ATATTATTCAACAATTTATCGGAAACAG				
179	ATTATTCAACAATTTATCGGAAACAGCG				
180	TTATTCAACAATTTATCGGAAACAGCGT				

[0162]

				181	TATTCAACAATTTATCGGAAACAGCGTT
				182	ATTCACAATTTATCGGAAACAGCGTTT
ant (3') -I	11	5' -TTGATCCGGTTCCTGAA CAGGATCTATTTGAGGCGCTA AATG-3'	氨基糖苷类药 物耐药	183	TTGATCCGGTTCCTGAACAGGATCTATT
				184	GATCCGGTTCCTGAACAGGATCTATTTG
				185	CCGGTTCCTGAACAGGATCTATTTGAGG
				186	GGTTCCTGAACAGGATCTATTTGAGGCG
				187	GTTCTGAACAGGATCTATTTGAGGCGC
				188	TTCTGAACAGGATCTATTTGAGGCGCT
				189	TCCTGAACAGGATCTATTTGAGGCGCTA
				190	CCTGAACAGGATCTATTTGAGGCGCTAA
				191	CTGAACAGGATCTATTTGAGGCGCTAAA
				ant (2') ')-I	12
193	CAAAGCACATAGAGTCTACAGGCTCGC				
194	AAAGCACATAGAGTCTACAGGCTCGCA				
195	AGCACATAGAGTCTACAGGCTCGCATG				
196	GCACATAGAGTCTACAGGCTCGCATGC				
197	CACATAGAGTCTACAGGCTCGCATGCA				
198	ACATAGAGTCTACAGGCTCGCATGCAC				
199	CATAGAGTCTACAGGCTCGCATGCACC				
200	ATAGAGTCTACAGGCTCGCATGCACCT				
201	TAGAGTCTACAGGCTCGCATGCACCTC				
qacA/B	13	5' -GATTTAGCTCATGTAGC TGAAGAATCTGTAGTGGCGC TGTCGAA-3'	耐消毒剂		
				203	ATTTAGCTCATGTAGCTGAAGAATCTGT
				204	TTAGCTCATGTAGCTGAAGAATCTGTAG
				205	CTCATGTAGCTGAAGAATCTGTAGTGGG
				206	CATGTAGCTGAAGAATCTGTAGTGGGCG
				207	ATGTAGCTGAAGAATCTGTAGTGGGCGC
				208	GTAGCTGAAGAATCTGTAGTGGGCGCTG
				209	TAGCTGAAGAATCTGTAGTGGGCGCTGT
				210	GCTGAAGAATCTGTAGTGGGCGCTGTCG
				211	CTGAAGAATCTGTAGTGGGCGCTGTCGA
				ErmA	14
213	TCCCCTACGGCATCACCTCCGCCATCGT				
214	CCCTACGGCATCACCTCCGCCATCGTCG				
215	CCTACGGCATCACCTCCGCCATCGTCGA				
216	CTACGGCATCACCTCCGCCATCGTCGAC				
217	CGGCATCACCTCCGCCATCGTCACTGG				
ErmB	15	5' -TTGAAAGCCATGCGTCT GACATCTATCTGATTGTTGAA GAAGGATTC-3'	红霉素耐药	218	TGAAAGCCATGCGTCTGACATCTATCTG
				219	GAAAGCCATGCGTCTGACATCTATCTGA
				220	AAAGCCATGCGTCTGACATCTATCTGAT
				221	AGCCATGCGTCTGACATCTATCTGATTG
				222	GCCATGCGTCTGACATCTATCTGATTGT
				223	CATGCGTCTGACATCTATCTGATTGTTG
				224	ATGCGTCTGACATCTATCTGATTGTTGA
				225	GCGTCTGACATCTATCTGATTGTTGAAG
				226	CGTCTGACATCTATCTGATTGTTGAAGA
				227	CTGACATCTATCTGATTGTTGAAGAAGG
ErmC	16	5' -CGTGGAATACGGGTTTG CTAAAAGATTATTAATAACAA AACGCTCATTGGC-3'	红霉素耐药	228	CGTGGAATACGGGTTTGCTAAAAGATTA
				229	GTGGAATACGGGTTTGCTAAAAGATTAT
				230	TGGAAATACGGGTTTGCTAAAAGATTATT
				231	GGAATACGGGTTTGCTAAAAGATTATTA
				232	GAATACGGGTTTGCTAAAAGATTATTA

[0163]

				233	AATACGGGTTTGCTAAAAGATTATTA
				234	ATACGGGTTTGCTAAAAGATTATTA
				235	TACGGGTTTGCTAAAAGATTATTA
				236	ACGGGTTTGCTAAAAGATTATTA
				237	CGGGTTTGCTAAAAGATTATTA
mefA	17	5' -TACCCAGCACTCAATG CGGTTACACCACCTTTAGTAC CAGAAGAA-3'	大环内酯外排	238	TACCCAGCACTCAATGCGGTTACACCA
				239	ACCCAGCACTCAATGCGGTTACACCAC
				240	CCCCAGCACTCAATGCGGTTACACCAC
				241	CCCAGCACTCAATGCGGTTACACCAC
				242	CCAGCACTCAATGCGGTTACACCAC
				243	CAGCACTCAATGCGGTTACACCAC
				244	GCACTCAATGCGGTTACACCAC
				245	CACTCAATGCGGTTACACCAC
				246	ACTCAATGCGGTTACACCAC
				247	CTCAATGCGGTTACACCAC
				VanA	18
249	AATCTTAATGAGCAGGCTGTTTTGGG				
250	TCTTAATGAGCAGGCTGTTTTGGG				
251	TTAATGAGCAGGCTGTTTTGGG				
252	ATTGAGCAGGCTGTTTTGGG				
253	TTGAGCAGGCTGTTTTGGG				
254	AGCAGGCTGTTTTGGG				
255	ACGGAAGAACTTAACGCTGCGATAGA				
VanB	19	5' -ACGGAAGAACTTAACGC TGCGATAGAAGCGGCAGGACA ATAT-3'	万古霉素耐药	256	GAAGAACTTAACGCTGCGATAGAAG
				257	AAGAACTTAACGCTGCGATAGAAG
				258	AACTTAACGCTGCGATAGAAGCGG
				259	ACTTAACGCTGCGATAGAAGCGG
				260	CTTAACGCTGCGATAGAAGCGG
				261	TTAACGCTGCGATAGAAGCGG
				262	TAACGCTGCGATAGAAGCGG
				263	AACGCTGCGATAGAAGCGG
				264	ACGCTGCGATAGAAGCGG
				265	TTGAACTAATGAACCTGCCTTATG
VanC1	20	5' -CTTGAACCTAATGAACCT GCCTTATGTTGGTTGCCATGT CGCTG-3'	万古霉素耐药	266	TGAACTAATGAACCTGCCTTATG
				267	AACTAATGAACCTGCCTTATG
				268	ACTAATGAACCTGCCTTATG
				269	CTAATGAACCTGCCTTATG
				270	TAATGAACCTGCCTTATG
				271	ATGAACCTGCCTTATG
				272	TGAACCTGCCTTATG
				273	AACCTGCCTTATG
				274	ACCTGCCTTATG
				275	AAATCAATACTATGCCGGGCTTAC
VanC2	21	5' -AAATCAATACTATGCCG GGCTTACGAGTCACTCCCGC TATCC-3'	万古霉素耐药	276	AATCAATACTATGCCGGGCTTAC
				277	ATCAATACTATGCCGGGCTTAC
				278	TCAATACTATGCCGGGCTTAC
				279	CAATACTATGCCGGGCTTAC
				280	AATACTATGCCGGGCTTAC
				281	ATACTATGCCGGGCTTAC
				282	TACTATGCCGGGCTTAC
				283	CTATGCCGGGCTTAC
				284	TATGCCGGGCTTAC

[0164]

VanD	22	5' -AGGAACATGATGTTTCA GTGAAATCTGCGATGGAGGTT GCA-3'	万古霉素耐药	285	GGAACATGATGTTTCACTGAAATCTGCG
				286	GAACATGATGTTTCACTGAAATCTGCGA
				287	CATGATGTTTCACTGAAATCTGCGATGG
				288	GATGTTTCACTGAAATCTGCGATGGAGG
				289	ATGTTTCACTGAAATCTGCGATGGAGGT
				290	GTTTCACTGAAATCTGCGATGGAGGTTG
				291	TTTCACTGAAATCTGCGATGGAGGTTGC
VanE	23	5' -CATGGAGTTATGGTGA GAATGGTGCTATGCAGGGAGT ATTTGAG-3'	万古霉素耐药	292	CATGGAGTTATGGTGAATGGTGCTA
				293	TGGAGTTATGGTGAATGGTGCTATG
				294	GGAGTTATGGTGAATGGTGCTATGC
				295	GTTATGGTGAATGGTGCTATGCAGGG
				296	TATGGTGAATGGTGCTATGCAGGGAG
				297	ATGGTGAATGGTGCTATGCAGGGAGT
				298	TGGTGAATGGTGCTATGCAGGGAGTA
				299	GGTGAATGGTGCTATGCAGGGAGTAT
				300	GTGAAATGGTGCTATGCAGGGAGTATT
				301	GAGAATGGTGCTATGCAGGGAGTATTG
				AcrAB-To 1C	24
303	CAGAAGTTCGTCCTCAAGTTAGCGGGAT				
304	AGAAGTTCGTCCTCAAGTTAGCGGGATT				
305	GAAGTTCGTCCTCAAGTTAGCGGGATTA				
306	AAGTTCGTCCTCAAGTTAGCGGGATTAT				
307	AGTTCGTCCTCAAGTTAGCGGGATTATC				
308	GTTTCGTCCTCAAGTTAGCGGGATTATCC				
309	TCGTCCTCAAGTTAGCGGGATTATCCTG				
310	CGTTCCTCAAGTTAGCGGGATTATCCTGA				
311	TCCTCAAGTTAGCGGGATTATCCTGAAG				
OprM	25	5' -CCAAAAGAGGGCGGGAT AGGCTAGAGCCCCTATAGCAC TAGG-3'	多药耐药外排 泵		
				313	CAAAAAGAGGGCGGGATAGGCTAGAGCCC
				314	AAAAGAGGGCGGGATAGGCTAGAGCCCC
				315	AAAGAGGGCGGGATAGGCTAGAGCCCCT
				316	AAGAGGGCGGGATAGGCTAGAGCCCCTA
				317	AGAGGGCGGGATAGGCTAGAGCCCCTAT
				318	AGGGCGGGATAGGCTAGAGCCCCTATAG
				319	GGGCGGGATAGGCTAGAGCCCCTATAGC
				320	GGCGGGATAGGCTAGAGCCCCTATAGCA
				321	GCGGGATAGGCTAGAGCCCCTATAGCAC
				SmeDEF	26
323	TACCGATGGAAGTATCCCCATGAAAAG				
324	CCGATGGAAGTATCCCCATGAAAAGTG				
325	CGATGGAAGTATCCCCATGAAAAGTGC				
326	GATGGAAGTATCCCCATGAAAAGTGCA				
327	ATGGAAGTATCCCCATGAAAAGTGCAT				
328	TGGAAGTATCCCCATGAAAAGTGCATC				
329	GGAAGTATCCCCATGAAAAGTGCATCC				
330	GAAGTATCCCCATGAAAAGTGCATCCC				
331	AGTATCCCCATGAAAAGTGCATCCCTG				
ileS	27	5' -GAGCCGATTCTTTAAGA TGGGCCTTAATTTCCGATAGT GCTCCA-3'	莫匹罗星耐药		
				333	AGCCGATTCTTTAAGATGGGCCTTAATT
				334	GCCGATTCTTTAAGATGGGCCTTAATTT
				335	GATTCTTTAAGATGGGCCTTAATTTCCG
				336	ATTCTTTAAGATGGGCCTTAATTTCCGA

[0165]

				337	TTCTTTAAGATGGGCCTTAATTCGGAT
				338	CTTTAAGATGGGCCTTAATTCGGATAG
				339	TTAAGATGGGCCTTAATTCGGATAGTG
				340	TAAGATGGGCCTTAATTCGGATAGTGC
				341	AAGATGGGCCTTAATTCGGATAGTGCT
dfrA	28	5' -GGAAACCATTGCCAAATAGACGTAACGTCGTTCTCACTAACCAAGCT-3'	磺胺类耐药	342	GGAACCATTGCCAAATAGACGTAACGCT
				343	AAACCATTGCCAAATAGACGTAACGTCG
				344	AACCATTGCCAAATAGACGTAACGTCGT
				345	ACCATTGCCAAATAGACGTAACGTCGTT
				346	CCATTGCCAAATAGACGTAACGTCGTTTC
				347	CATTGCCAAATAGACGTAACGTCGTTCT
				348	ATTGCCAAATAGACGTAACGTCGTTCTC
				349	TTGCCAAATAGACGTAACGTCGTTCTCA
				350	TGCCAAATAGACGTAACGTCGTTCTCAC
				351	GCCAAATAGACGTAACGTCGTTCTCACT
dfrD	29	5' -TTGTTGCGATGGATAAGAAAAGAGTAATCGGCAAGGAT AACGACATTC-3'	磺胺类耐药	352	TTGTTGCGATGGATAAGAAAAGAGTAAT
				353	TTGCGATGGATAAGAAAAGAGTAATCGG
				354	TGCGATGGATAAGAAAAGAGTAATCGGC
				355	GCGATGGATAAGAAAAGAGTAATCGGCA
				356	ATGGATAAGAAAAGAGTAATCGGCAAGG
				357	TGGATAAGAAAAGAGTAATCGGCAAGGA
				358	GGATAAGAAAAGAGTAATCGGCAAGGAT
				359	GATAAGAAAAGAGTAATCGGCAAGGATA
				360	ATAAGAAAAGAGTAATCGGCAAGGATAA
				361	AAGAAAAGAGTAATCGGCAAGGATAACG
tlrB	30	5' -CTACGGTCATGCGGAAGAACGTCGTGCGATATCTGCGCTGTC-3'	泰洛星耐药	362	CTACGGTCATGCGGAAGAACGTCGTGCG
				363	TACGGTCATGCGGAAGAACGTCGTGCGA
				364	ACGGTCATGCGGAAGAACGTCGTGCGAT
				365	CGGTCATGCGGAAGAACGTCGTGCGATA
				366	GGTCATGCGGAAGAACGTCGTGCGATAT
				367	GTCATGCGGAAGAACGTCGTGCGATATC
				368	CATGCGGAAGAACGTCGTGCGATATCTG
				369	TGCGGAAGAACGTCGTGCGATATCTGCG
				370	GCGGAAGAACGTCGTGCGATATCTGCGC
				371	GGAAGAACGTCGTGCGATATCTGCGCTG
norA	31	5' -TCCTCACAAGCAACTACTGATGGATTCCACCAATATCACCTGAA-3'	氟喹诺酮耐药	372	TCCTCACAAGCAACTACTGATGGATTCC
				373	CCTCACAAGCAACTACTGATGGATTCC
				374	CTCACAAGCAACTACTGATGGATTCCA
				375	TCACAAGCAACTACTGATGGATTCCAC
				376	CACAAGCAACTACTGATGGATTCCACC
				377	ACAAGCAACTACTGATGGATTCCACCA
				378	CAAAGCAACTACTGATGGATTCCACCAA
				379	AAAGCAACTACTGATGGATTCCACCAAT
				380	AAGCAACTACTGATGGATTCCACCAATA
				381	AGCAACTACTGATGGATTCCACCAATAT
TEM	32	5' -TTATCTACACGACGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAA CGAA-3'	beta 内酰胺酶类耐药	382	TTATCTACACGACGGGAGTCAGGCAAC
				383	TATCTACACGACGGGAGTCAGGCAACT
				384	ATCTACACGACGGGAGTCAGGCAACTA
				385	TACACGACGGGAGTCAGGCAACTATGG
				386	ACACGACGGGAGTCAGGCAACTATGGA
				387	ACGACGGGAGTCAGGCAACTATGGATG
				388	CGACGGGAGTCAGGCAACTATGGATGA

[0166]

				389	GACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAA
				390	CGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACG
				391	GGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGA
SHV	33	5' -TAACAAAGCAGAGCGCA TCGTGGTGATTTATCTGCGGG ATA-3'	beta 内酰胺酶 类耐药	392	TAACAAAGCAGAGCGCATCGTGGTGATT
				393	AACAAAGCAGAGCGCATCGTGGTGATTT
				394	ACAAAGCAGAGCGCATCGTGGTGATTTA
				395	CAAAGCAGAGCGCATCGTGGTGATTTAT
				396	AAAGCAGAGCGCATCGTGGTGATTTATC
				397	AGCAGAGCGCATCGTGGTGATTTATCTG
				398	GAGCGCATCGTGGTGATTTATCTGCGGG
				399	AGCGCATCGTGGTGATTTATCTGCGGGA
				400	GCGCATCGTGGTGATTTATCTGCGGGAT
				CTX-M1	34
402	TGAGACGTTTCGTCTGGATCGCACTGAA				
403	GAGACGTTTCGTCTGGATCGCACTGAAC				
404	AGACGTTTCGTCTGGATCGCACTGAACC				
405	GACGTTTCGTCTGGATCGCACTGAACCT				
406	ACGTTTCGTCTGGATCGCACTGAACCTA				
407	GTTTCGTCTGGATCGCACTGAACCTACG				
408	TTTCGTCTGGATCGCACTGAACCTACGC				
409	TCGCTGGATCGCACTGAACCTACGCTG				
410	CGTCTGGATCGCACTGAACCTACGCTGA				
CTX-M2	35	5' -AAGAAGCGACCTGGT TAACTACAATCCCATTCGCGGA GAAACA-3'	beta 内酰胺酶 类耐药	411	AAGAAGCGACCTGGTTAACTACAATC
				412	AGAAGCGACCTGGTTAACTACAATCC
				413	GAAGCGACCTGGTTAACTACAATCCC
				414	AAGCGACCTGGTTAACTACAATCCCA
				415	AGAGCGACCTGGTTAACTACAATCCCAT
				416	AGCGACCTGGTTAACTACAATCCCATTG
				417	GACCTGGTTAACTACAATCCCATTCGCGG
				418	CCTGGTTAACTACAATCCCATTCGCGGAG
				419	CTGGTTAACTACAATCCCATTCGCGGAGA
				420	TGGTTAACTACAATCCCATTCGCGGAGAA
CTX-M3	36	5' -GCGGTGCTGAAGAAAAG TGAAAGCGAACCGAATCTGTT AAATC-3'	beta 内酰胺酶 类耐药	421	GCGGTGCTGAAGAAAAGTGAAGCGAAC
				422	GGTCTGAAGAAAAGTGAAGCGAACCG
				423	GTGCTGAAGAAAAGTGAAGCGAACCGA
				424	TGCTGAAGAAAAGTGAAGCGAACCGAA
				425	GCTGAAGAAAAGTGAAGCGAACCGAAT
				426	CTGAAGAAAAGTGAAGCGAACCGAATC
				427	GAAGAAAAGTGAAGCGAACCGAATCTG
				428	AAGAAAAGTGAAGCGAACCGAATCTGT
				429	AGAAAAGTGAAGCGAACCGAATCTGTT
				430	GAAAAGTGAAGCGAACCGAATCTGTTA
PER	37	5' -CGGCCACTAATGATTTA GGTATCATTCTGTTGCCTGAT GGACG-3'	beta 内酰胺酶 类耐药	431	GGCCACTAATGATTTAGGTATCATTCTG
				432	GCCACTAATGATTTAGGTATCATTCTGT
				433	CACTAATGATTTAGGTATCATTCTGTTG
				434	ACTAATGATTTAGGTATCATTCTGTTGC
				435	CTAATGATTTAGGTATCATTCTGTTGCC
				436	AATGATTTAGGTATCATTCTGTTGCCTG
				437	ATGATTTAGGTATCATTCTGTTGCCTGA
				438	ATTTAGGTATCATTCTGTTGCCTGATGG
				439	TTTAGGTATCATTCTGTTGCCTGATGGA
VEB	38	5' -AGATTACCCCTCAAGAC	beta 内酰胺酶	440	AGATTACCCCTCAAGACCTTTTGCCATA

[0167]

		CTTTTGCCTAAAACGTGGAGT CCGATTAAA-3'	类耐药	441	GATTACCCCTCAAGACCTTTTGCCTAAA
				442	ATTACCCCTCAAGACCTTTTGCCTAAA
				443	TACCCCTCAAGACCTTTTGCCTAAAACG
				444	CCCTCAAGACCTTTTGCCTAAAACGTGG
				445	CTCAAGACCTTTTGCCTAAAACGTGGAG
				446	TCAAGACCTTTTGCCTAAAACGTGGAGT
				447	CAAGACCTTTTGCCTAAAACGTGGAGTC
				448	AGACCTTTTGCCTAAAACGTGGAGTCCG
				449	GACCTTTTGCCTAAAACGTGGAGTCCGA
AmpC	39	5' -AGCATCCAGCCGTGCT CAAGGAGCACAGGATC-3'	头孢菌素耐药	450	CATCCAGCCGTGCTCAAGGAGCACAGG
				451	ATCCAGCCGTGCTCAAGGAGCACAGGA
				452	TCCAGCCGTGCTCAAGGAGCACAGGAT
IMP	40	5' -CACTCCATTACGGCTA AAGATACTGAAAAGTTAGTCA CTTGTTTGG-3'	碳青霉烯酶耐 药	453	CACTCCATTACGGCTAAAGATACTGAA
				454	ACTCCATTACGGCTAAAGATACTGAAA
				455	TCCATTACGGCTAAAGATACTGAAAAG
				456	CCATTACGGCTAAAGATACTGAAAAGT
				457	CATTTACGGCTAAAGATACTGAAAAGTT
				458	TTTACGGCTAAAGATACTGAAAAGTTAG
				459	TTACGGCTAAAGATACTGAAAAGTTAGT
				460	TACGGCTAAAGATACTGAAAAGTTAGTC
				461	ACGGCTAAAGATACTGAAAAGTTAGTCA
				462	CGGCTAAAGATACTGAAAAGTTAGTCAC
IMP1	41	5' -CATTTTCATAGCGACAG CACGGCGGAATAGAGTGGCT TAAT-3'	碳青霉烯酶耐 药	463	CATTTTCATAGCGACAGCACGGGCGGAA
				464	ATTTTCATAGCGACAGCACGGGCGGAAT
				465	TTTCATAGCGACAGCACGGGCGGAATAG
				466	TCATAGCGACAGCACGGGCGGAATAGAG
				467	TAGCGACAGCACGGGCGGAATAGAGTGG
				468	AGCGACAGCACGGGCGGAATAGAGTGGC
				469	GCGACAGCACGGGCGGAATAGAGTGGCT
				470	CGACAGCACGGGCGGAATAGAGTGGCTT
				471	GACAGCACGGGCGGAATAGAGTGGCTTA
				472	ACAGCACGGGCGGAATAGAGTGGCTTAA
OXA23	42	5' -TTAAAATGTTGAATGCC CTGATCGGATTGGAGAACCAG AAAGC-3'	碳青霉烯酶耐 药	473	AAAATGTTGAATGCCCTGATCGGATTGG
				474	AATGTTGAATGCCCTGATCGGATTGGAG
				475	ATGTTGAATGCCCTGATCGGATTGGAGA
				476	TGTTGAATGCCCTGATCGGATTGGAGAA
				477	GTTGAATGCCCTGATCGGATTGGAGAAC
				478	TTGAATGCCCTGATCGGATTGGAGAACC
				479	GAATGCCCTGATCGGATTGGAGAACCAG
				480	AATGCCCTGATCGGATTGGAGAACCAGA
				481	ATGCCCTGATCGGATTGGAGAACCAGAA
				482	GCCCTGATCGGATTGGAGAACCAGAAAAG
OXA24	43	5' -AATGGGTGTTACTCCAC AGGTAGGTTGGTTGACTGGTT GGGT-3'	碳青霉烯酶耐 药	483	AATGGGTGTTACTCCACAGGTAGGTTGG
				484	ATGGGTGTTACTCCACAGGTAGGTTGGT
				485	GGGTGTTACTCCACAGGTAGGTTGGTTG
				486	GGTGTACTCCACAGGTAGGTTGGTTGA
				487	GTGTACTCCACAGGTAGGTTGGTTGAC
				488	TTACTCCACAGGTAGGTTGGTTGACTGG
				489	TACTCCACAGGTAGGTTGGTTGACTGGT
				490	CCACAGGTAGGTTGGTTGACTGGTTGGG
VIM	44	5' -GTGATGGTGATGAGTTG CTTTTGATTGATACAGCGTGG	碳青霉烯酶耐 药	491	GTGATGGTGATGAGTTGCTTTTGATTGA
				492	TGATGGTGATGAGTTGCTTTTGATTGAT

[0168]

		GGTG-3'		493	GATGGTGATGAGTTGCTTTTGATTGATA
				494	ATGGTGATGAGTTGCTTTTGATTGATAC
				495	GGTGATGAGTTGCTTTTGATTGATACAG
				496	TGATGAGTTGCTTTTGATTGATACAGCG
				497	AGTTGCTTTTGATTGATACAGCGTGGGG
GES2	45	5'-CTGCGGTGCAGCTTAGC GACAATGGGGCTACTAACCTC TTAC-3'	碳青霉烯酶耐 药	498	CTGCGGTGCAGCTTAGCGACAATGGGGC
				499	TGCGGTGCAGCTTAGCGACAATGGGGCT
				500	GCGGTGCAGCTTAGCGACAATGGGGCTA
				501	CGGTGCAGCTTAGCGACAATGGGGCTAC
				502	GGTGCAGCTTAGCGACAATGGGGCTACT
				503	GTGCAGCTTAGCGACAATGGGGCTACTA
				504	TGCAGCTTAGCGACAATGGGGCTACTAA
				505	GCAGCTTAGCGACAATGGGGCTACTAAC
				506	CAGCTTAGCGACAATGGGGCTACTAACCT
				507	AGCTTAGCGACAATGGGGCTACTAACCT
mecA	46	5'-GAACTCAAAATGAAACA AGGAGAACTGGCAGACAAAT TGGGTGG-3'	金黄色葡萄球 菌耐药	508	AACTCAAAATGAAACAAGGAGAAACTGG
				509	ACTCAAAATGAAACAAGGAGAAACTGGC
				510	TCAAAATGAAACAAGGAGAAACTGGCAG
				511	CAAAATGAAACAAGGAGAAACTGGCAGA
				512	AAAATGAAACAAGGAGAAACTGGCAGAC
				513	AAATGAAACAAGGAGAAACTGGCAGACA
				514	AATGAAACAAGGAGAAACTGGCAGACAA
				515	ATGAAACAAGGAGAAACTGGCAGACAAA
				516	TGAAACAAGGAGAAACTGGCAGACAAAT
				517	ACAAGGAGAAACTGGCAGACAAATGGG
Cat	47	5'-CCTTGCAGCTTCATCAT GCTGTATGTGATGGTTACCAT GCTTC-3'	氯霉素酰基转 移酶基因	518	CCTTGCAGCTTCATCATGCTGTATGTGA
				519	TGCAGCTTCATCATGCTGTATGTGATGG
				520	GCAGCTTCATCATGCTGTATGTGATGGT
				521	CAGCTTCATCATGCTGTATGTGATGGTT
				522	AGCTTCATCATGCTGTATGTGATGGTTA
				523	GCTTCATCATGCTGTATGTGATGGTTAC
				524	CTTCATCATGCTGTATGTGATGGTTACC
				525	TTCATCATGCTGTATGTGATGGTTACCA
				526	CATCATGCTGTATGTGATGGTTACCATG
				527	ATCATGCTGTATGTGATGGTTACCATGC
Zeocin	48	5'-GAGCTGTACGCCGAGTG GTCGGAGGTCGTGTCCACGAA CTT-3'	博来霉素基因	528	GAGCTGTACGCCGAGTGGTCGGAGGTCG
				529	GCTGTACGCCGAGTGGTCGGAGGTCGTG
				530	CTGTACGCCGAGTGGTCGGAGGTCGTGT
				531	TGTACGCCGAGTGGTCGGAGGTCGTGTC
				532	GTACGCCGAGTGGTCGGAGGTCGTGTCC
				533	TACGCCGAGTGGTCGGAGGTCGTGTCCA
				534	CGCCGAGTGGTCGGAGGTCGTGTCCACG
				535	GCCGAGTGGTCGGAGGTCGTGTCCACGA
				536	CCGAGTGGTCGGAGGTCGTGTCCACGAA
				537	CGAGTGGTCGGAGGTCGTGTCCACGAAC
Bsr	49	5'-CCATTCATCTCAATGAG CACAAAGCAGTCAGGAGCATA GTCAGA-3'	杀稻瘟菌基因	538	CCATTCATCTCAATGAGCACAAAGCAGT
				539	CATTCATCTCAATGAGCACAAAGCAGTC
				540	TCATCTCAATGAGCACAAAGCAGTCAGG
				541	ATCTCAATGAGCACAAAGCAGTCAGGAG
				542	TCTCAATGAGCACAAAGCAGTCAGGAGC
				543	CTCAATGAGCACAAAGCAGTCAGGAGCA
				544	TCAATGAGCACAAAGCAGTCAGGAGCAT

[0169]

				545	AATGAGCACAAGCAGTCAGGAGCATAG
				546	ATGAGCACAAGCAGTCAGGAGCATAGT
				547	TGAGCACAAGCAGTCAGGAGCATAGTC
Puromycin	50	5' -GCCACATCGAGCGGGTC ACCGAGCTGCAAGAACTCTTC CT-3'	嘌呤霉素基因	548	GCCACATCGAGCGGGTCACCGAGCTGCA
				549	CACATCGAGCGGGTCACCGAGCTGCAAG
				550	ACATCGAGCGGGTCACCGAGCTGCAAGA
				551	CATCGAGCGGGTCACCGAGCTGCAAGAA
				552	ATCGAGCGGGTCACCGAGCTGCAAGAAC
				553	TCGAGCGGGTCACCGAGCTGCAAGAACT
				554	CGAGCGGGTCACCGAGCTGCAAGAACTC
				555	GAGCGGGTCACCGAGCTGCAAGAACTCT
				556	AGCGGGTCACCGAGCTGCAAGAACTCTT
				557	GCGGGTCACCGAGCTGCAAGAACTCTTC
				Kana	51
559	ATGAATAACGGTTTGGTTGATGCGAGTG				
560	TGAATAACGGTTTGGTTGATGCGAGTGA				
561	GAATAACGGTTTGGTTGATGCGAGTGAT				
562	AATAACGGTTTGGTTGATGCGAGTGATT				
563	ATAACGGTTTGGTTGATGCGAGTGATTT				
564	AACGGTTTGGTTGATGCGAGTGATTTTG				
565	ACGGTTTGGTTGATGCGAGTGATTTTGA				
566	GGTTTGGTTGATGCGAGTGATTTTGTG				
567	GTTTGGTTGATGCGAGTGATTTTGTG				
Tet	52	5' -CACCGTCACCCCTGGATG CTGTAGGCATAGGCTTGG-3 ,	氨基糖苷类基因		
				569	CGTCACCCCTGGATGCTGTAGGCATAGGC
				570	GTCACCCCTGGATGCTGTAGGCATAGGCT
Amp	53	5' -CACGACGGGAGTCAGG CAACTATGGATGAACGA-3'	四环素基因	571	ACGACGGGAGTCAGGCAACTATGGATG
				572	CGACGGGAGTCAGGCAACTATGGATGA
				573	GACGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAA
				574	CGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACG
PME	54	5' -GCCAATGGATGGTTGAA ACCGGCTTGTTCGGCATCA G-3'	超广谱 β - 内酰胺酶耐药基因	575	GCGAATGGATGGTTGAAACCGGGTCTTG
				576	CGAATGGATGGTTGAAACCGGGTCTTGT
				577	GAATGGATGGTTGAAACCGGGTCTTGT
				578	TGGATGGTTGAAACCGGGTCTTGTTCGG
				579	GGATGGTTGAAACCGGGTCTTGTTCGGC
				580	GATGGTTGAAACCGGGTCTTGTTCGGCA
				581	ATGGTTGAAACCGGGTCTTGTTCGGCAT
				582	TGGTTGAAACCGGGTCTTGTTCGGCATC
幽门螺杆菌 23S rRNA	55	5' -GTCGGTTAAATACCGAC CTGCATGAATGGCGTAACGAG ATGGGAGCTGTCTCAACCAGA GATTCAGTGAAATTGTAGTGG AGGTGAAAATTCCTCCTACCC GCGGAAGACGGAAAGACCCC GTGGACCTTTACTACAACCTTA GCACTGCTAATGGGAATATCA TGCGCAGGATAGGTGGGAGGC TTTGAAGTAAGGGCTTTGGCT CTTATGGAGCCATCCTTGAGA TACCACCTTGAT-3'		583	TCGGTTAAATACCGACCTGCATGAATGG
				584	GGTTAAATACCGACCTGCATGAATGGCG
				585	GTTAAATACCGACCTGCATGAATGGCGT
				586	TTAAATACCGACCTGCATGAATGGCGTA
				587	TAAATACCGACCTGCATGAATGGCGTAA
				588	AATACCGACCTGCATGAATGGCGTAACG
				589	TACCGACCTGCATGAATGGCGTAACGAG
				590	ACCGACCTGCATGAATGGCGTAACGAGA
				591	ACCTGCATGAATGGCGTAACGAGATGGG
				592	CTGCATGAATGGCGTAACGAGATGGGAG

[0170]

鼻疽伯克霍尔德氏菌和类鼻疽伯克霍尔德氏菌特异性结构基因 16S rDNA	56	5' -GGAGTACGGTCGCAAGA TAAAACTCAAAGGAATTGAC GGGG-3'	593	GGAGTACGGTCGCAAGATTA AAACTCAA
			594	GTACGGTCGCAAGATTA AAACTCAAAGG
			595	TACGGTCGCAAGATTA AAACTCAAAGGA
			596	ACGGTCGCAAGATTA AAACTCAAAGGAA
			597	CGGTCGCAAGATTA AAACTCAAAGGAAT
			598	GTCGCAAGATTA AAACTCAAAGGAATTG
鼻疽伯克霍尔德氏菌和类鼻疽伯克霍尔德氏菌特异性结构基因 毒力基因 flagellin C	57	5' -TCAACAGCAACATTAAC TCGTTGGTCGCTCAACAGAA CCTCA-3'	599	TCGCAAGATTA AAACTCAAAGGAATTGA
			600	TCAACAGCAACATTA AACTCGTTGGTCGC
			601	CAACAGCAACATTA AACTCGTTGGTCGCT
			602	AACAGCAACATTA AACTCGTTGGTCGCTC
			603	ACAGCAACATTA AACTCGTTGGTCGCTCA
			604	CAGCAACATTA AACTCGTTGGTCGCTCAA
			605	AGCAACATTA AACTCGTTGGTCGCTCAAC
			606	CAACATTA AACTCGTTGGTCGCTCAACAG
			607	AACATTA AACTCGTTGGTCGCTCAACAGA
			608	ACATTA AACTCGTTGGTCGCTCAACAGAA
			609	CATTA AACTCGTTGGTCGCTCAACAGAAC
布鲁氏菌 16S ribosomal 特异序列	58	5' -CGCCTGGGAGTACGGT CGCAAGATTA AAACTCAAAGG A AT-3'	610	CGCCTGGGAGTACGGTCGCAAGATTA A
			611	GCCTGGGAGTACGGTCGCAAGATTA AAA
			612	CCTGGGAGTACGGTCGCAAGATTA AAA
			613	CTGGGAGTACGGTCGCAAGATTA AAAAC
			614	TGGGAGTACGGTCGCAAGATTA AAAACT
			615	GGGAGTACGGTCGCAAGATTA AAAACTC
			616	GGGAGTACGGTCGCAAGATTA AAAACTCA
			617	GGAGTACGGTCGCAAGATTA AAAACTCAA
			618	GTACGGTCGCAAGATTA AAAACTCAAAGG
布鲁氏菌 热休克蛋白 31KD 基因	59	5' -CGTAAGGATGCAAACAT CAAATCGGTCGAGACCTGAA AG-3'	619	TACGGTCGCAAGATTA AAAACTCAAAGGA
			620	CGTAAGGATGCAAACATCAAATCGGTCG
			621	GTAAGGATGCAAACATCAAATCGGTCGCG
			622	AAGGATGCAAACATCAAATCGGTCGCGAG
			623	AGGATGCAAACATCAAATCGGTCGCGAGA
			624	GGATGCAAACATCAAATCGGTCGCGAGAC
			625	GATGCAAACATCAAATCGGTCGCGAGACC
			626	TGCAAACATCAAATCGGTCGCGAGACCTG
			627	GCAAACATCAAATCGGTCGCGAGACCTGA
			628	CAAACATCAAATCGGTCGCGAGACCTGAA
沙门氏菌 hilA	60	5' -GCCGCAACCTACGACTC ATACATTGGCGATACTTCCTT TTCA-3'	629	GCCGCAACCTACGACTCATACTGGCGG
			630	CCGCAACCTACGACTCATACTGGCGGA
			631	CGCAACCTACGACTCATACTGGCGAT
			632	GCAACCTACGACTCATACTGGCGATA
			633	CAACCTACGACTCATACTGGCGATAC
			634	AACCTACGACTCATACTGGCGATACT
			635	ACCTACGACTCATACTGGCGATACTT
			636	CCTACGACTCATACTGGCGATACTTC
			637	CTACGACTCATACTGGCGATACTTCC
			638	TACGACTCATACTGGCGATACTTCCCT
沙门氏菌 invA	61	5' -TTGGTGTATGGGGTCG TTCTACATTGACAGAATCCTC AGTTT TTCA-3'	639	TTGGTGTATGGGGTCGTTCTACATTG
			640	TGGTGTATGGGGTCGTTCTACATTGA
			641	GGTGTATGGGGTCGTTCTACATTGAC
			642	TGTTATGGGGTCGTTCTACATTGACAG
			643	GTTATGGGGTCGTTCTACATTGACAGA

[0171]

			644	TTTATGGGGTCGTTCTACATTGACAGAA
			645	TTATGGGGTCGTTCTACATTGACAGAAT
			646	TATGGGGTCGTTCTACATTGACAGAATC
			647	ATGGGGTCGTTCTACATTGACAGAATCC
			648	TGGGGTCGTTCTACATTGACAGAATCCT
鼠疫耶尔森菌 3a	62	5'-TTGTATGGCACGGACAGAACTTAGCAGTGAAGGACTGGAAGC-3'	649	TTGTATGGCACGGACAGAACTTAGCAG
			650	GTATGGCACGGACAGAACTTAGCAGTGA
			651	TGGCACGGACAGAACTTAGCAGTGAAGG
			652	GGCACGGACAGAACTTAGCAGTGAAGG
			653	GCACGGACAGAACTTAGCAGTGAAGG
			654	CGGACAGAACTTAGCAGTGAAGGACTGG
			655	GGACAGAACTTAGCAGTGAAGGACTGGA
			656	ACAGAACTTAGCAGTGAAGGACTGGAAG
鼠疫耶尔森菌 caf1	63	5'-GGTACGCTTACTCTTGGCGGCTATAAAAACAGGAACCACTAGCACAA-3'	658	GTACGCTTACTCTTGGCGGCTATAAAA
			659	CGCTTACTCTTGGCGGCTATAAAAACAGG
			660	GCTTACTCTTGGCGGCTATAAAAACAGGA
			661	CTTACTCTTGGCGGCTATAAAAACAGGAA
			662	TTACTCTTGGCGGCTATAAAAACAGGAAC
			663	TACTCTTGGCGGCTATAAAAACAGGAACC
			664	ACTCTTGGCGGCTATAAAAACAGGAACCA
			665	CTCTTGGCGGCTATAAAAACAGGAACCC
			666	TCTTGGCGGCTATAAAAACAGGAACCACT
炭疽芽孢杆菌 EF	64	5'-GTGGCTACAAGGGATTGAATGTTTCATGGAAAGGATTG-3'	667	TGGCTACAAGGGATTGAATGTTTCATGG
			668	GGCTACAAGGGATTGAATGTTTCATGGAA
			669	GCTACAAGGGATTGAATGTTTCATGGAA
			670	TACAAGGGATTGAATGTTTCATGGAAAG
			671	CAAAGGGATTGAATGTTTCATGGAAAGAG
			672	AAAGGGATTGAATGTTTCATGGAAAGAGT
			673	AAGGGATTGAATGTTTCATGGAAAGAGTT
			674	GGATTGAATGTTTCATGGAAAGAGTTCGG
			675	GATTGAATGTTTCATGGAAAGAGTTCGGA
			676	ATTGAATGTTTCATGGAAAGAGTTCGGAT
炭疽芽孢杆菌 pX02	65	5'-AACTAGAAGGCTGGTCAACAAGTGAAATTAACAAGTAAATTATGTCTCGTATGCGGTCCA-3'	677	AACTAGAAGGCTGGTCAACAAGTGAAA
			678	ACTTAGAAGGCTGGTCAACAAGTGAAAT
			679	CTTAGAAGGCTGGTCAACAAGTGAAATTA
			680	TTAGAAGGCTGGTCAACAAGTGAAATTA
			681	AGAAGGCTGGTCAACAAGTGAAATTAATG
			682	GAAGGCTGGTCAACAAGTGAAATTAATGT
			683	AAGGCTGGTCAACAAGTGAAATTAATGTC
			684	AGGCTGGTCAACAAGTGAAATTAATGTCT
			685	GCTGGTCAACAAGTGAAATTAATGTCTCG
			686	CTGGTCAACAAGTGAAATTAATGTCTCGT
土拉弗朗西斯菌 Francise 11a	66	5'-TGGTCTTACAACATCTCAAGGAAGCTTGCCAGTATG-3'	687	TGGTCTTACAACATCTCAAGGAAGCTTG
			688	GGTCTTACAACATCTCAAGGAAGCTTGCC
			689	GTCTTACAACATCTCAAGGAAGCTTGCC
			690	CTTACAACATCTCAAGGAAGCTTGCCAG
			691	TTACAACATCTCAAGGAAGCTTGCCAGT
			692	TACAACATCTCAAGGAAGCTTGCCAGTA
			693	CAACATCTCAAGGAAGCTTGCCAGTATG
			694	AACATCTCAAGGAAGCTTGCCAGTATGT
			695	CATCTCAAGGAAGCTTGCCAGTATGTTG

[0172]

			696	TCTCAAGGAAGCTTGCCAGTATGTTGCG
			697	CAACAGGTGCTTGGGATGTGGGTGGTGG
			698	AACAGGTGCTTGGGATGTGGGTGGTGGT
			699	ACAGGTGCTTGGGATGTGGGTGGTGGTC
			700	CAGGTGCTTGGGATGTGGGTGGTGGTCT
			701	AGGTGCTTGGGATGTGGGTGGTGGTCTT
			702	GGTGCTTGGGATGTGGGTGGTGGTCTTA
			703	TGCTTGGGATGTGGGTGGTGGTCTTAAG
			704	GCTTGGGATGTGGGTGGTGGTCTTAAGT
			705	CTTGGGATGTGGGTGGTGGTCTTAAGTT
			706	TGGGATGTGGGTGGTGGTCTTAAGTTTG
			707	GCCCGCAGATTTACTTCTCCATGAGTGA
			708	CGCAGATTTACTTCTCCATGAGTGACGG
			709	GCAGATTTACTTCTCCATGAGTGACGGGA
			710	CAGATTTACTTCTCCATGAGTGACGGAC
			711	AGATTTACTTCTCCATGAGTGACGGACA
			712	GATTTACTTCTCCATGAGTGACGGACAA
			713	ATTTACTTCTCCATGAGTGACGGACAAC
			714	TTACTTCTCCATGAGTGACGGACAACAG
			715	TACTTCTCCATGAGTGACGGACAACAGA
			716	ACTTCTCCATGAGTGACGGACAACAGAA
			717	CAAGTAGGTATAACGGGTATCGGTGCCA
			718	AAGTAGGTATAACGGGTATCGGTGCCAA
			719	AGTAGGTATAACGGGTATCGGTGCCAAA
			720	GTAGGTATAACGGGTATCGGTGCCAAAA
			721	TAGGTATAACGGGTATCGGTGCCAAAAA
			722	AGGTATAACGGGTATCGGTGCCAAAAAA
			723	GGTATAACGGGTATCGGTGCCAAAAAAA
			724	TATAACGGGTATCGGTGCCAAAAAAACG
			725	ATAACGGGTATCGGTGCCAAAAAAACGC
			726	TAACGGGTATCGGTGCCAAAAAAACGCA
			727	CGCTTGGCTATATGTTTACTGACAACAT
			728	GCTTGGCTATATGTTTACTGACAACATC
			729	TTGGCTATATGTTTACTGACAACATCAG
			730	TGGCTATATGTTTACTGACAACATCAGT
			731	GGCTATATGTTTACTGACAACATCAGTT
			732	GCTATATGTTTACTGACAACATCAGTTT
			733	TATATGTTTACTGACAACATCAGTTTGT
			734	ATATGTTTACTGACAACATCAGTTTGA
			735	ATGTTTACTGACAACATCAGTTTGAAG
			736	TGTTTACTGACAACATCAGTTTGAAGT
			737	ATATTGCTCCAGCAGCAGATGGTTATGG
			738	TATTGCTCCAGCAGCAGATGGTTATGGA
			739	ATTGCTCCAGCAGCAGATGGTTATGGAT
			740	GCTCCAGCAGCAGATGGTTATGGATTGG
			741	CTCCAGCAGCAGATGGTTATGGATTGGC
			742	CAGCAGCAGATGGTTATGGATTGGCAGG
			743	AGCAGCAGATGGTTATGGATTGGCAGGT
			744	GCAGCAGATGGTTATGGATTGGCAGGTT
			745	CAGCAGATGGTTATGGATTGGCAGGTTT
			746	AAAGTGACGTATCCAGGACTGACGAAGG
			747	AAGTGACGTATCCAGGACTGACGAAGGT
土拉弗朗西斯菌 FopA	67	5'-CAACAGGTGCTTGGGATGTGGGTGGTGGTCTTAAGTTG AACTA T-3'		
志贺菌属和侵袭性大肠埃希菌 ipaH	68	5'-GCCCGCAGATTTACTTCTCCATGAGTGACGGACAACAGATAAC-3'		
志贺菌属和侵袭性大肠埃希菌 ipaC	69	5'-CAAGTAGGTATAACGGGTATCGGTGCCAAAAAAACGCAT TCAGG-3'		
霍乱弧菌 ompW	70	5'-CGCTTGGCTATATGTTTACTGACAACATCAGTTTGAAG TCCTC GCTC-3'		
霍乱弧菌 CtxA	71	5'-GATATTGCTCCAGCAGCA GATGGTTATGGATTGGCAGGT TTC-3'		
白喉毒素 DTA	72	5'-TCAAAGTGACGTATCCAG GACTGACGAAGTTCTCGCAC		

[0173]

		TAAAA-3'		748	AGTGACGTATCCAGGACTGACGAAGGTT
				749	GTGACGTATCCAGGACTGACGAAGGTTTC
				750	TGACGTATCCAGGACTGACGAAGGTTCT
				751	ACGTATCCAGGACTGACGAAGGTTCTCG
				752	CGTATCCAGGACTGACGAAGGTTCTCGC
				753	GTATCCAGGACTGACGAAGGTTCTCGCA
				754	TATCCAGGACTGACGAAGGTTCTCGCAC
				755	ATCCAGGACTGACGAAGGTTCTCGCACT
I 型痢疾志贺菌 ShT	73	5'-GATTTAATGTCGCATAGT GGAACCTCACTGACGCAGTCT GTGG-3'		756	GATTTAATGTCGCATAGTGGAACCTCAC
				757	TTTAATGTCGCATAGTGGAACCTCACTG
				758	TTAATGTCGCATAGTGGAACCTCACTGA
				759	AATGTCGCATAGTGGAACCTCACTGACG
				760	ATGTCGCATAGTGGAACCTCACTGACGC
				761	GTCGCATAGTGGAACCTCACTGACGCAG
				762	TCGCATAGTGGAACCTCACTGACGCAGT
				763	CGCATAGTGGAACCTCACTGACGCAGTC
				764	CATAGTGGAACCTCACTGACGCAGTCTG
肉毒毒素 BoNT	74	5'-TTGAGGAGTCACTTGAAG TTGATACAAATCCTCTTTAG GTGCA GGCA-3'		765	TTGAGGAGTCACTTGAAGTTGATACAAA
				766	TGAGGAGTCACTTGAAGTTGATACAAAT
				767	GAGGAGTCACTTGAAGTTGATACAAATC
				768	AGGAGTCACTTGAAGTTGATACAAATCC
				769	GGAGTCACTTGAAGTTGATACAAATCCT
				770	GAGTCACTTGAAGTTGATACAAATCCTC
				771	AGTCACTTGAAGTTGATACAAATCCTCT
				772	GTCACTTGAAGTTGATACAAATCCTCTT
				773	TCACTTGAAGTTGATACAAATCCTCTTT
				774	CACTTGAAGTTGATACAAATCCTCTTTT
肉毒毒素 B 型基因	75	5'-TGGAGGGCAAGATCCCA GCATCATAAGTCCTTCTACGG ATAAA-3'		775	TGGAGGGCAAGATCCCAGCATCATAAGT
				776	GGAGGGCAAGATCCCAGCATCATAAGTC
				777	GAGGGCAAGATCCCAGCATCATAAGTCC
				778	AGGGCAAGATCCCAGCATCATAAGTCCT
				779	GGGCAAGATCCCAGCATCATAAGTCCTT
				780	GCCAAGATCCCAGCATCATAAGTCCTTC
				781	GCAAGATCCCAGCATCATAAGTCCTTCT
				782	CAAGATCCCAGCATCATAAGTCCTTCTA
				783	GATCCCAGCATCATAAGTCCTTCTACGG
				784	ATCCCAGCATCATAAGTCCTTCTACGGA
肉毒毒素 E 型基因	76	5'-AGCAATGGATGTTTTG GAACTTTATTTCTGAAGAACA TGGATGG CAA-3'		785	AGCAATGGATGTTTTGGAACTTATTT
				786	GCAATGGATGTTTTGGAACTTATTTTC
				787	AATGGATGTTTTGGAACTTATTTCTG
				788	ATGGATGTTTTGGAACTTATTTCTGA
				789	GGATGTTTTGGAACTTATTTCTGAAG
				790	GATGTTTTGGAACTTATTTCTGAAGA
				791	ATGTTTTGGAACTTATTTCTGAAGAA
				792	TGTTTTGGAACTTATTTCTGAAGAAC
				793	GTTTTGGAACTTATTTCTGAAGAACA
				794	TTTGAACTTATTTCTGAAGAACATGG
肉毒毒素 F 型基因	77	5'-CGTCTTTAATGAAGCCG GTGGATCAAAATCACTAGGAT TCGTTC C-3'		795	CGTCTTTAATGAAGCCGGTGGATCAAAA
				796	GTTCTTTAATGAAGCCGGTGGATCAAAA
				797	TTCTTTAATGAAGCCGGTGGATCAAAAT
				798	TCTTTAATGAAGCCGGTGGATCAAAATC
				799	CTTTAATGAAGCCGGTGGATCAAAATCA

[0174]

			800	TTAATGAAGCCGGTGGATCAAAATCAC
			801	TTAATGAAGCCGGTGGATCAAAATCACT
			802	ATGAAGCCGGTGGATCAAAATCACTAGG
			803	TGAAGCCGGTGGATCAAAATCACTAGGA
			804	GAAGCCGGTGGATCAAAATCACTAGGAT
蓖麻毒素 RTA 基因	78	5' -ACGAGAATTAGGTACAA CCGGAGATCTGCACCAGATCC TAGCG-3'	805	ACGAGAATTAGGTACAACCGGAGATCTG
			806	CGAGAATTAGGTACAACCGGAGATCTGC
			807	GAGAATTAGGTACAACCGGAGATCTGCA
			808	AGAATTAGGTACAACCGGAGATCTGCAC
			809	GAATTAGGTACAACCGGAGATCTGCACC
			810	ATTAGGTACAACCGGAGATCTGCACCAG
			811	TTAGGTACAACCGGAGATCTGCACCAGA
			812	TAGGTACAACCGGAGATCTGCACCAGAT
			813	AGGTACAACCGGAGATCTGCACCAGATC
			814	GGTACAACCGGAGATCTGCACCAGATCC
			破伤风毒 素 C 片段	79
816	TCCAATAAGTGCTGAAGAATTTTCACT			
817	CCAATAAGTGCTGAAGAATTTTCACTT			
818	CAATAAGTGCTGAAGAATTTTCACTTT			
819	TAAGTGCTGAAGAATTTTCACTTTTGG			
820	GTGCTGAAGAATTTTCACTTTTGGCGG			
821	TGCTGAAGAATTTTCACTTTTGGCGGA			
822	GCTGAAGAATTTTCACTTTTGGCGGAC			
823	GAAGAATTTTCACTTTTGGCGGACAGG			
824	AAGAATTTTCACTTTTGGCGGACAGGA			
产肠毒素 性葡萄球 菌 SEC2 基 因	80	5' -TTTTGGTATGATATGATG CCTGCACCAGGCGATAAGTTT GACC-3'		
			826	TGGTATGATATGATGCCTGCACCAGGCG
			827	GGTATGATATGATGCCTGCACCAGGCGA
			828	GTATGATATGATGCCTGCACCAGGCGAT
			829	TATGATATGATGCCTGCACCAGGCGATA
			830	TGATATGATGCCTGCACCAGGCGATAAG
			831	GATATGATGCCTGCACCAGGCGATAAGT
			832	ATATGATGCCTGCACCAGGCGATAAGTT
			833	ATGATGCCTGCACCAGGCGATAAGTTTGA
			834	TGATGCCTGCACCAGGCGATAAGTTTGA
			产肠毒素 性葡萄球 菌 SEB 基 因	81
836	CCAGATGAGTTGCACAAATCGAGTAAAT			
837	CAGATGAGTTGCACAAATCGAGTAAATT			
838	AGATGAGTTGCACAAATCGAGTAAATTC			
839	GATGAGTTGCACAAATCGAGTAAATTC			
840	ATGAGTTGCACAAATCGAGTAAATTCAC			
841	AGTTGCACAAATCGAGTAAATTCAGTGG			
842	GTTGCACAAATCGAGTAAATTCAGTGGT			
843	TTGCACAAATCGAGTAAATTCAGTGGTT			
844	GCACAAATCGAGTAAATTCAGTGGTTTGA			
产肠毒素 性葡萄球 菌 SED 基 因	82	5' -AAAATGTTACCGTACAAG AATTAGATGCACAAGCAAGGC GCTATT TGC-3'		
			846	AAAATGTTACCGTACAAGAATTAGATGCA
			847	AATGTTACCGTACAAGAATTAGATGCAC
			848	ATGTTACCGTACAAGAATTAGATGCACA
			849	GTTACCGTACAAGAATTAGATGCACAAG
			850	TTACCGTACAAGAATTAGATGCACAAGC
			851	TACCGTACAAGAATTAGATGCACAAGCA

[0175]	产肠毒素性葡萄球菌 SEA 基因	83	5'-TATGGTGCTTATTATGGT TATCAATGTGCGGGTGTACA CCAAAC A-3'	852	CGTACAAGAATTAGATGCACAAGCAAGG
				853	TACAAGAATTAGATGCACAAGCAAGGCG
				854	ACAAGAATTAGATGCACAAGCAAGGCGC
				855	TATGGTGCTTATTATGGTTATCAATGTG
				856	GTGCTTATTATGGTTATCAATGTGCGGG
				857	CTTATTATGGTTATCAATGTGCGGGTGG
				858	TTATTATGGTTATCAATGTGCGGGTGGT
				859	TATTATGGTTATCAATGTGCGGGTGGTA
				860	ATTATGGTTATCAATGTGCGGGTGGTAC
				861	TTATGGTTATCAATGTGCGGGTGGTACA
				862	TATGGTTATCAATGTGCGGGTGGTACAC
				863	ATGGTTATCAATGTGCGGGTGGTACACC
				864	TGGTTATCAATGTGCGGGTGGTACACCA
				865	TCATAACTTACCGTGGACCCCTCAGAAG
				866	CATAACTTACCGTGGACCCCTCAGAAGA
				867	ATAACTTACCGTGGACCCCTCAGAAGAA
				[0176]	产肠毒素性葡萄球菌 SEE 基因
869	ACTTACCGTGGACCCCTCAGAAGAATGA				
870	CTTACCGTGGACCCCTCAGAAGAATGAA				
871	TTACCGTGGACCCCTCAGAAGAATGAAA				
872	TACCGTGGACCCCTCAGAAGAATGAAAC				
873	ACCGTGGACCCCTCAGAAGAATGAAACA				
874	CCGTGGACCCCTCAGAAGAATGAAACAC				

[0176] 效果实施例

[0177] 本发明一具体实施方式中,本发明实施例提供了一种用于靶向肿瘤相关突变基因RNA的gRNA、一种基于C2c2的肿瘤相关突变基因的检测方法、检测试剂盒,包括但不限于如下步骤的一个或多个步骤:

[0178] 本实施例仅作为本发明技术方案的一种具体实现方式,不具体限定本发明的保护范围。

[0179] 一、Cas13a(即C2c2)基因克隆及蛋白表达

[0180] Cas13a(即C2c2)基因克隆及蛋白表达、活性检测(efficiency assay)参考“Nucleic acid detection with CRISPR-Cas13a,Jonathan S Gootenberg,Science,2017.4.13”(文献1)公开的实验方法和步骤。

[0181] 若无特殊说明,本发明采用的常规试剂均为市售商品。

[0182] 本发明实施例涉及的相关引物说明:

[0183] 和gRNA相关引物序列:

[0184] T7Lwa DRgRNA FP:

[0185] TAATACgACTCACTATAggggggATTTAgACTACCCCAAAAACgAAggggACTAAAAC

[0186] crRNA/gRAN引物:

[0187] 5'-表2中的SEQ ID NO.1-874所示gRNA序列的反向互补序列-

[0188] GTTTTAGTCCCCTTCGTTTTTGGGGTAGTCT-3'。

[0189] 和靶标序列相关的引物序列:

[0190] T7FP:TAATACgACTCACTATAggg

[0191] 靶标引物序列:

[0192] 5'-TCGAG-表2中的SEQ ID NO.1-874所示gRNA序列-ATTTAGCCCTATAGTGAGTCGTATTA-3'。

[0193] 采用源自*Leptotrichia wadei* F0279的Cas13a蛋白基因,经过密码子优化,使基因更适合在哺乳动物细胞中表达。优化后的Cas13a蛋白基因克隆入pACYC184骨架(该骨架包括由J23119启动子驱动表达的间隔序列,所述间隔序列为 β -内酰胺酶靶向或非靶向间隔区)。

[0194] 经过密码子优化的Cas13a蛋白基因克隆到原核表达质粒载体,所述原核表达质粒载体可采用带6-His组氨酸标签的pET质粒,方便蛋白纯化表达。表达菌采用Rosetta2 (DE3)。

[0195] 本发明实施例所采用质粒包括:

[0196] pC004质粒图谱:<https://benchling.com/s/1PJ1cCwR>(即带 β -内酰胺酶扫描位点的pACYC184)

[0197] pC009质粒图谱:<https://benchling.com/s/seq-ylkMuglYmiG4A3VhShZg>(LshCas13a基因插入带 β -内酰胺酶扫描位点的pACYC184质粒)

[0198] pC010质粒图谱:<https://benchling.com/s/seq-2WApFr3zni1G0ACyQY8a>(LshCas13a基因插入不带 β -内酰胺酶扫描位点的pACYC184质粒)

[0199] pC011质粒图谱:<https://benchling.com/s/seq-2WApFr3zni1G0ACyQY8a>(LwCas13a基因插入带 β -内酰胺酶扫描位点的pACYC184质粒)

[0200] pC012质粒图谱:<https://benchling.com/s/seq-2WApFr3zni1G0ACyQY8a>(LwCas13a基因插入不带 β -内酰胺酶扫描位点的pACYC184质粒)

[0201] pC013质粒图谱:<https://benchling.com/s/seq-2WApFr3zni1G0ACyQY8a>(LwCas13a基因插入带Twin-Strep标签的pACYC184质粒)

[0202] 将Cas13a蛋白重组表达载体转化后,进行蛋白表达、SDS-PAGE检测以及凝胶柱纯化,获得的纯化后的Cas13a蛋白放-80℃保存。

[0203] 二、待检测位点模版前处理

[0204] 10 μ M T7引物,10 μ M靶标引物,2x KOD FX buffer,200 μ M dNTP,0.1 μ L KOD FX(KOD FX,KFX-101,TOYOBO),加水至10 μ L。以PCR程序:94℃10s,60℃10s,68℃20s扩增6个循环。反应完成后加水至50 μ L,-20℃保存备用。

[0205] 分别合成靶标引物序列,各靶标引物序列分别包含表2中的SEQ ID NO.1-874所示gRNA序列。

[0206] 三、crRNA制备

[0207] 10 μ M T7引物,10 μ M crRNA引物,2x KOD FX buffer,200 μ M dNTP,0.5 μ L KOD FX(KOD FX,KFX-101,TOYOBO),加水至50 μ L。以PCR程序:94℃10s,60℃10s,68℃20s扩增6个循环。以Qiaquick PCR Purification试剂盒(Qiaquick PCR Purification,28104,Qiagen)进行产物纯化,以15 μ L TE洗脱。体外转录:2 μ g PCR产物,10 μ L 5x transcription buffer,ATP、GTP、UTP、CTP(NTP Set,100mM Solution,R0481,Thermo)各1 μ L,1.5 μ L T7 RNA聚合酶(T7 RNA Polymerase(20U/ μ L),EP0111,Thermo),加水至50 μ L。37℃反应16小时。反应结束后加入2 μ L Turbo DNase(TURBO DNase(2U/ μ L),AM2239,Thermo)37℃孵育2小时。上述反应产物以RNeasy Mini Kit(Rneasy Mini Kit,76106,Qiagen)以试剂盒提供方案进行纯化,并以20 μ L RNase free水洗脱crRNA,-20℃保存备用。

[0208] 分别合成crRNA引物序列,各crRNA引物序列分别包含与表3中的SEQ ID NO.1-874

所示gRNA序列反向互补的序列(特别说明的是,本发明表3中的SEQ ID NO.1-874所示gRNA序列为gRNA的编码序列,需要经过转录,才能获得gRNA)

[0209] 四、检测体系(50 μ L)

[0210] 1 μ L待检测样品,45nM LwCas13a,22.5nM crRNA,25ng人类总RNA,125nM substrate reporter(RNaseAlert Lab Test Kit v2,4479768,Thermo),缓冲液buffer(20mM HEPES,60mM NaCl,6mM MgCl₂,pH 6.8),1 μ L RNA酶抑制剂(RNasin Ribonuclease Inhibitors,N2515,Promega),1mM ATP,1mM GTP,1mM UTP,1mM CTP(NTP Set,100mM Solution,R0481,Thermo),1.5 μ L T7 RNA聚合酶(T7 RNAPolymerase(20U/ μ L),EP0111,Thermo)。

[0211] 五、读板

[0212] 以VICTOR X5读板机进行记录,激发波长490/发射波长520、从孔顶读数、读数时间每孔1秒,板托温度设定为37 $^{\circ}$ C,每5分钟读一次数值,连续记录2小时。

[0213] 本实施例针对表2中的SEQ ID NO.1-874所示每条gRNA序列重复上述效果实施例步骤二至五,重复4次取平均值,荧光强度去除背景后如图1至图9所示。图1-9中,横坐标为表2中的SEQ ID NO.1-874对应的SEQ ID NO.编号;纵坐标为去除背景的荧光强度。NC为负对照(检测体系中无靶RNA)。由图1-图9可知,本发明提供的gRNA的特异性非常强,可以非常特异性地识别靶向序列,成功检测靶向基因。

序列表 SEQUENCE LISTING

<110> 广州华昶投资咨询有限公司
 <120> 用于靶向病原体基因 RNA 的 gRNA 及基于 C2c2 的病原体基因的检测方法、检测试剂盒
 <130> 2017
 <160> 874
 <170> PatentIn version 3.3
 <210> 1
 <211> 47
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <400> 1
 ccagtggaca taagcctgtt cggttcgtaa actgtaatgc aagtagc 47
 <210> 2
 <211> 44
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <400> 2
 gggcatttaa agcgatttc tgcgtgttta tggctacatg tctg 44
 <210> 3
 <211> 43
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <400> 3
 agtgggaaaa tacgaagggtg aacatcatag acacgccagg aca 43
 <210> 4
 <211> 43
 [0001] <212> DNA
 <213> 人工序列
 <400> 4
 ggtgcttatg tgatctactg gcaagcagat tacggtgacg atc 43
 <210> 5
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <400> 5
 gtcgaaacta tagcaaatgc ttacgtgaag ctcggtcgcc at 42
 <210> 6
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <400> 6
 tggctaaact ggtggcaata gaaggatacg tgctgatgct tg 42
 <210> 7
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <400> 7
 ctcaaggaga agagccttca gaaggagggt ccagtcggtc at 42
 <210> 8
 <211> 43
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <400> 8
 acttgctgac gtacaggaac agtacttgcc aagcgttita gcg 43

	<210> 9	
	<211> 42	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 9	
	ggtgggaaga tgaactgat ccaggagtgc gaggaataga cc	42
	<210> 10	
	<211> 48	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 10	
	ttgcccaata ttattcaaca attatcggga aacagcgttt tagagcca	48
	<210> 11	
	<211> 42	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 11	
	ttgatccggt tctgaacag gatctatttg aggcgctaaa tg	42
	<210> 12	
	<211> 43	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 12	
	tacaaagcac atagagtctt acaggctcgc atgcacctca ctc	43
	<210> 13	
	<211> 45	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
[0002]	<400> 13	
	gatttagctc atgtagctga agaactctgta gtggcgctg tcgaa	45
	<210> 14	
	<211> 38	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 14	
	gatcccctac ggcatcacct ccgccatcgt cgactggt	38
	<210> 15	
	<211> 47	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 15	
	ttgaaagcca tgcgtctgac atctatctga ttgtgaaga aggattc	47
	<210> 16	
	<211> 51	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 16	
	cgtggaatac gggttgcta aaagattatt aaatacaaaa cgctcattgg c	51
	<210> 17	
	<211> 46	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 17	
	taccccagca ctcaatgcgg ttacaccact tttagtacca gaagaa	46
	<210> 18	
	<211> 42	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	

	<400> 18	
	aaaatcttaa ttgagcaggc tgtttgggc tgtgaggtcg gt	42
	<210> 19	
	<211> 42	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 19	
	acggaagaac ttaacgctgc gatagaagcg gcaggacaat at	42
	<210> 20	
	<211> 43	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 20	
	cttgaactaa tgaacctgcc ttatgttggg tgccatgtcg ctg	43
	<210> 21	
	<211> 43	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 21	
	aaatcaatac tatgccgggc ttacgagtc actcccgcta tcc	43
	<210> 22	
	<211> 41	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 22	
	aggaaatga tgtttcagtg aaatctgcga tggagggtgc a	41
	<210> 23	
	<211> 45	
	<212> DNA	
[0003]	<213> 人工序列	
	<400> 23	
	catggagggt atggtgagaa tggctctatg caggagatg ttgag	45
	<210> 24	
	<211> 42	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 24	
	gcagaagtc gtcctcaagt tagcgggatt atcctgaagc gt	42
	<210> 25	
	<211> 42	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 25	
	ccaaaagagg gcgggatagg ctagagcccc tatagcacta gg	42
	<210> 26	
	<211> 42	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 26	
	agtaccgatg gaagtgatcc ccatgaaaag tgcacccctg tt	42
	<210> 27	
	<211> 44	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 27	
	gagccgattc tttaatgg gccttaatt cgatagtgcc tcca	44
	<210> 28	
	<211> 47	
	<212> DNA	

	<213> 人工序列	
	<400> 28	
	ggaaccatt gccaaataga cgtaacgtcg ttctactaa ccaagct	47
	<210> 29	
	<211> 48	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 29	
	ttgtgcat ggataagaaa agagtaatcg gcaaggataa cgacattc	48
	<210> 30	
	<211> 42	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 30	
	ctacggcat gcggaagaac gtcgtgcat atctgcgctg tc	42
	<210> 31	
	<211> 46	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 31	
	tctcacaaa gcaactactg atggattcca ccaatatcaa cctgaa	46
	<210> 32	
	<211> 42	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 32	
	ttatctacac gacggggagt caggcaacta tggatgaacg aa	42
	<210> 33	
[0004]	<211> 41	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 33	
	taacaaagca gagcgcacg tggatgatta tctgcgggat a	41
	<210> 34	
	<211> 42	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 34	
	atgagacgtt tcgtctggat cgcactgaac ctacgctgaa ta	42
	<210> 35	
	<211> 44	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 35	
	aagaagacg acctggtaa ctacaatccc attgcggaga aaca	44
	<210> 36	
	<211> 43	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 36	
	gcggtcctga agaaaagtga aagcgaaccg aatctgtaa atc	43
	<210> 37	
	<211> 43	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 37	
	cggccactaa tgatttagt atcattctgt tgctgatgg acg	43
	<210> 38	

	<211> 47	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 38	
	agattacccc tcaagacctt ttgcctaaaa cgtggagtcc gattaa	47
	<210> 39	
	<211> 33	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 39	
	agcatccagc cgtgctcaa ggagcacagg atc	33
	<210> 40	
	<211> 50	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 40	
	cactccattt acggctaaag ataactgaaaa gttagtcact tggttgtgg	50
	<210> 41	
	<211> 42	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 41	
	cattttcata gcgacagcac gggcgggaata gagtggctta at	42
	<210> 42	
	<211> 43	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 42	
	ttaaagtgtt gaatgccctg atcggattgg agaaccagaa agc	43
[0005]	<210> 43	
	<211> 42	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 43	
	aatgggtgtt actccacagg taggtgtgtt gactggttgg gt	42
	<210> 44	
	<211> 42	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 44	
	gtgatgtga tgagttgctt ttgattgata cagcgtgggg tg	42
	<210> 45	
	<211> 42	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 45	
	ctgcggtgca gcttagcgac aatggggcta ctaacctt ac	42
	<210> 46	
	<211> 45	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 46	
	gaactcaaaa tgaacaagg agaaactggc agacaaattg ggtgg	45
	<210> 47	
	<211> 43	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 47	
	ccttcagct tcatcatgct gtatgtgatg gtfaccatgc ttc	43

	<210> 48	
	<211> 41	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 48	
	gagctgtacg ccgagtggtc ggaggtcgtg tccacgaact t	41
	<210> 49	
	<211> 44	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 49	
	ccatcatct caatgagcac aaagcagtca ggagcatagt caga	44
	<210> 50	
	<211> 40	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 50	
	gccacatcga ggggtcacc gagctgcaag aactcttct	40
	<210> 51	
	<211> 44	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 51	
	gaatgaataa cggtttggt gatgcgagtg atttgatga cgag	44
	<210> 52	
	<211> 35	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 52	
[0006]	caccgtcacc ctggatgctg taggcatagg cttgg	35
	<210> 53	
	<211> 34	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 53	
	cacgacgggg agtcaggcaa ctatggatga acga	34
	<210> 54	
	<211> 39	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 54	
	gcgaatggat ggttgaaacc gggctctgt cgcatcag	39
	<210> 55	
	<211> 240	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 55	
	gtcggtaaa taccgacctg catgaatggc gtaacgagat gggagctgtc tcaaccagag	60
	attcagtga atgtagtgg aggtgaaaat tectctacc cgcggcaaga cggaaagacc	120
	ccgtggacct ttactacaac ttagcactgc taatgggaat atcatgca gcataggtgg	180
	gaggcttga agtaagggtc ttggctcta tggagccatc cftgagatac caccctgat	240
	<210> 56	
	<211> 42	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 56	
	ggagtacggt cgcaagatta aaactcaaag gaattgacgg gg	42
	<210> 57	
	<211> 42	

	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 57	
	tcaacagcaa cattaactcg ttggtcgctc aacagaacct ca	42
	<210> 58	
	<211> 41	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 58	
	cgctctggga gtacggctgc aagattaaaa ctcaaaggaa t	41
	<210> 59	
	<211> 40	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 59	
	cgtaaggatg caaacatcaa atcggctgca gacctgaaag	40
	<210> 60	
	<211> 42	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 60	
	gccgcaacct acgactcata cattggcgat acttccttt ca	42
	<210> 61	
	<211> 48	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 61	
	ttggtgttta tgggctggt ctacattgac agaactctca gttttca	48
	<210> 62	
[0007]	<211> 42	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 62	
	ttgatggca cggacagaaa cttagcagtg aggactggaa gc	42
	<210> 63	
	<211> 45	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 63	
	ggtacgctta ctctggcgg ctataaaaca ggaaccacta gcaca	45
	<210> 64	
	<211> 44	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 64	
	gtgctacaa agggattgaa tttcatgga aagagttcgg attg	44
	<210> 65	
	<211> 48	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 65	
	aacttagaag gctggtcaac aagtgaaatt atgtctcgta tgcgtcca	48
	<210> 66	
	<211> 42	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 66	
	ttgtcttaca acatctcaag gaagcttgcc agtatgttc gc	42

	<210> 67	
	<211> 45	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 67	
	caacaggtgc ttgggatgtg ggtggtggtc ttaagttga actat	45
	<210> 68	
	<211> 43	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 68	
	gccccagat ttactctcc atgagtgacg gacaacagaa tac	43
	<210> 69	
	<211> 44	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 69	
	caagtaggta taacgggtat cgggtccaaa aaaacgcatt cagg	44
	<210> 70	
	<211> 48	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 70	
	cgcttgcta tatgttact gacaacatca gtttgaagt cctcgtc	48
	<210> 71	
	<211> 42	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 71	
[0008]	gatattgctc cagcagcaga tggttatgga ttggcaggtt tc	42
	<210> 72	
	<211> 44	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 72	
	tcaaagtac gtatccagga ctgacgaagg ttctcgcact aaaa	44
	<210> 73	
	<211> 43	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 73	
	gatttaatgt cgcatagtgg aacctcactg acgcagtctg tgg	43
	<210> 74	
	<211> 48	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 74	
	ttgaggatc acttgaagt gatacaaatc ctcttttagg tgcaggca	48
	<210> 75	
	<211> 43	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 75	
	tggaggcaaa gatcccagca tcataagtcc ttctacggat aaa	43
	<210> 76	
	<211> 48	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 76	

	agcaatggat gtttttgaa ctttattct gaagaacatg gatggcaa	48
	<210> 77	
	<211> 46	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 77	
	cgttcttaa tgaagccggg ggatcaaaat cactaggatt cgttcc	46
	<210> 78	
	<211> 43	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 78	
	acgagaatta ggtacaaccg gagatctgca ccagatccta gcg	43
	<210> 79	
	<211> 46	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 79	
	atccaataag tgctgaagaa ctattcactt ttggcggaca ggatgc	46
	<210> 80	
	<211> 43	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 80	
	ttttggtatg atatgatgcc tgcaccaggc gataagttg acc	43
	<210> 81	
	<211> 46	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
[0009]	<400> 81	
	accagatgag ttgcacaaat cgagtaaatt cactggttg atggaa	46
	<210> 82	
	<211> 48	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 82	
	aaaatgttac cgtacaagaa ttagatgcac aagcaaggcg ctatttgc	48
	<210> 83	
	<211> 46	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 83	
	tatggtgctt attatggta tcaatgtcgc ggtggtacac caaaca	46
	<210> 84	
	<211> 47	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 84	
	tcataactta ccgtggacc tcagaagaa tgaacacaa tcaagcc	47
	<210> 85	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 85	
	ccagtggaca taagctgtt cggttcgt	28
	<210> 86	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	

	<400> 86	
	cagtgacat aagcctgttc ggttcgta	28
	<210> 87	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 87	
	agtgacata agcctgttcg gttcgtaa	28
	<210> 88	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 88	
	gtggacataa gcctgttcgg ttcgtaaa	28
	<210> 89	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 89	
	tggacataag cctgttcggt tcgtaaac	28
	<210> 90	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 90	
	gacataagcc tttcgggtc gtaaactg	28
	<210> 91	
	<211> 28	
	<212> DNA	
[0010]	<213> 人工序列	
	<400> 91	
	acataagcct gttcgggttc taaactgt	28
	<210> 92	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 92	
	cataagcctg ttcgggttcg aaactgta	28
	<210> 93	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 93	
	ataagcctgt tcgggttcgta aactgtaa	28
	<210> 94	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 94	
	aagcctgttc ggttcgtaaa ctgtaatg	28
	<210> 95	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 95	
	gggcatttaa agcgatttc tgcgtgtt	28
	<210> 96	
	<211> 28	
	<212> DNA	

	<213> 人工序列	
	<400> 96	
	ggcatttaaa gcgatttct gcgtgtt	28
	<210> 97	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 97	
	gcatttaaag cgatttctg cgtgttta	28
	<210> 98	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 98	
	tttaaagcga tttctgcgt gttatgg	28
	<210> 99	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 99	
	ttaaagcga tttctgcgtg ttatggc	28
	<210> 100	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 100	
	taaagcgatt tctgcgtg ttatggct	28
	<210> 101	
	<211> 28	
[0011]	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 101	
	aaagcgattt tctgcgtgtt tatggcta	28
	<210> 102	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 102	
	aagcgattt ctgcgtgtt atggctac	28
	<210> 103	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 103	
	agcgatttc tgcgtgtta tggctaca	28
	<210> 104	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 104	
	cgatttctg cgtgttatg gctacatg	28
	<210> 105	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 105	
	agtgggaaaa tacgaagtg aacatcat	28
	<210> 106	
	<211> 28	

	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 106	
	tgggaaaata cgaaggtgaa catcatag	28
	<210> 107	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 107	
	gggaaaatac gaaggtgaac atcataga	28
	<210> 108	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 108	
	ggaaaatacg aaggtgaaca tcatagac	28
	<210> 109	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 109	
	gaaaatacga aggtgaacat catagaca	28
	<210> 110	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 110	
	aaatacgaag gtgaacatca tagacacg	28
	<210> 111	
[0012]	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 111	
	aatcgaagg tgaacatcat agacacgc	28
	<210> 112	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 112	
	atacgaagg gaacatcata gacacgc	28
	<210> 113	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 113	
	cgaaggtgaa catcatagac acgccagg	28
	<210> 114	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 114	
	gaaggtgaac atcatagaca cgccagga	28
	<210> 115	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 115	
	ggtgcttatg tgatctacgt gcaagcag	28
	<210> 116	

	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 116	
	gtgcttatgt gatctacgtg caagcaga	28
	<210> 117	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 117	
	tgcttatgtg atctacgtgc aagcagat	28
	<210> 118	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 118	
	gcttatgtga tctacgtgca agcagatt	28
	<210> 119	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 119	
	cttatgtgat ctacgtgcaa gcagatta	28
	<210> 120	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 120	
[0013]	atgtgatcta cgtgcaagca gattacgg	28
	<210> 121	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 121	
	gtgatctacg tgcaagcaga ttacggtg	28
	<210> 122	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 122	
	tgatctacgt gcaagcagat tacggtga	28
	<210> 123	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 123	
	atctacgtgc aagcagatta cggtagcg	28
	<210> 124	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 124	
	tctacgtgca agcagattac ggtgacga	28
	<210> 125	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 125	
	gtcgaaacta tagcaaatgc ttacgtga	28

	<210> 126	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 126	
	cgaaactata gaaatgctt acgtgaag	28
	<210> 127	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 127	
	gaaactatag caaatgctta cgtgaagc	28
	<210> 128	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 128	
	aaactatagc aaatgcttac gtgaagct	28
	<210> 129	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 129	
	ctatagcaaa tgcttacgtg aagctcgg	28
	<210> 130	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 130	
[0014]	tatagcaaat gcttacgtga agctcgg	28
	<210> 131	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 131	
	tagcaaatgc ttacgtgaag ctoggtcg	28
	<210> 132	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 132	
	agcaaatgct tacgtgaagc tcggtcgc	28
	<210> 133	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 133	
	gcaaatgctt acgtgaagct cggtcgcc	28
	<210> 134	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 134	
	caaatgctta cgtgaagctc ggctgcc	28
	<210> 135	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 135	

	tggctaaact ggtggcaata gaaggata	28
	<210> 136	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 136	
	gctaaactgg tggcaataga aggatacg	28
	<210> 137	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 137	
	taaactggtg gcaatagaag gatacgtg	28
	<210> 138	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 138	
	aaactggtg caatagaagg atacgtgc	28
	<210> 139	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 139	
	actggtggca atagaaggat acgtgctg	28
	<210> 140	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
[0015]	<400> 140	
	ctggtggcaa tagaaggata cgtgctga	28
	<210> 141	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 141	
	ggtggcaata gaaggatacg tgctgatg	28
	<210> 142	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 142	
	gtggcaatag aaggatacgt gctgatgc	28
	<210> 143	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 143	
	tggcaataga aggatacgtg ctgatgct	28
	<210> 144	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 144	
	tcaaggagaa gagccttcag aaggaagg	28
	<210> 145	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	

	<400> 145	
	caaggagaag agccttcaga aggaaggt	28
	<210> 146	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 146	
	aaggagaaga gccttcagaa ggaaggtc	28
	<210> 147	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 147	
	aggagaagag ccttcagaag gaaggtcc	28
	<210> 148	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 148	
	gagaagagcc ttcagaagga aggtccag	28
	<210> 149	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 149	
	agaagagcct tcagaaggaa ggtccagt	28
	<210> 150	
	<211> 28	
	<212> DNA	
[0016]	<213> 人工序列	
	<400> 150	
	agagccttca gaaggaaggt ccagtcgg	28
	<210> 151	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 151	
	gagccttcag aaggaaggtc cagtcggt	28
	<210> 152	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 152	
	agccttcaga aggaaggtcc agtcggtc	28
	<210> 153	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 153	
	gccttcagaa ggaaggtcca gtcggtca	28
	<210> 154	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 154	
	acttgctgac gtacaggaac agtacttg	28
	<210> 155	
	<211> 28	
	<212> DNA	

	<213> 人工序列	
	<400> 155	
	cttgctgacg tacaggaaca gtacttgc	28
	<210> 156	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 156	
	ttgctgacgt acaggaacag tacttgcc	28
	<210> 157	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 157	
	tgctgacgta caggaacagt acttgcca	28
	<210> 158	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 158	
	ctgacgtaca ggaacagtac ttgccaag	28
	<210> 159	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 159	
	gacgtacagg aacagtactt gccaacgc	28
	<210> 160	
	<211> 28	
[0017]	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 160	
	acgtacagga acagtacttg ccaagcgt	28
	<210> 161	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 161	
	cgtagaggaa cagtacttgc caagcgtt	28
	<210> 162	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 162	
	gtacaggaac agtacttgcc aagcgttt	28
	<210> 163	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 163	
	tacaggaaca gtacttgcca agcgtttt	28
	<210> 164	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 164	
	gtgggaagat gaaactgatc caggagtg	28
	<210> 165	
	<211> 28	

	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 165	
	gggaagatga aactgatcca ggagtgcg	28
	<210> 166	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 166	
	aaatgaaac tgatccagga gtgcgagg	28
	<210> 167	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 167	
	agatgaaact gatccaggag tgcgagga	28
	<210> 168	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 168	
	gatgaaactg atccaggagt gcgaggaa	28
	<210> 169	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 169	
	atgaaactga tccaggagtg cgaggaat	28
	<210> 170	
[0018]	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 170	
	gaaactgac caggagtgcg aggaatag	28
	<210> 171	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 171	
	aaactgatcc aggagtgcga ggaataga	28
	<210> 172	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 172	
	aaactgatcca ggagtgcgag gaatagac	28
	<210> 173	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 173	
	tgccaatat tattcaaca ttatcgg	28
	<210> 174	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 174	
	gccaatatt attcaacaat ttatcgg	28
	<210> 175	

	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 175	
	cccaatatta tcaacaatt tatcggaa	28
	<210> 176	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 176	
	ccaatattat tcaacaattt atcggaaa	28
	<210> 177	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 177	
	caatattatt caacaattta tcggaaac	28
	<210> 178	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 178	
	atattattca acaatttate ggaaacag	28
	<210> 179	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 179	
[0019]	attattcaac aatttatcgg aaacagcg	28
	<210> 180	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 180	
	ttattcaaca atttatcggaa aacagcgt	28
	<210> 181	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 181	
	tattcaacaa ttatcggaa acagcgtt	28
	<210> 182	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 182	
	attcaacaat ttatcggaaa cagcgtt	28
	<210> 183	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 183	
	ttgatccggt tcctgaacag gatctatt	28
	<210> 184	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 184	
	gatccggttc ctgaacagga tctatttg	28

	<210> 185	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 185	
	ccggttcctg aacaggatct attgagg	28
	<210> 186	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 186	
	ggttcctgaa caggatctat ttgaggcg	28
	<210> 187	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 187	
	gttcctgaac aggatctatt tgaggcgc	28
	<210> 188	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 188	
	ttcctgaaca ggatctattt gaggcgct	28
	<210> 189	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 189	
[0020]	tctgaacag gatctattg aggcgcta	28
	<210> 190	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 190	
	cctgaacagg atctatttga ggcgctaa	28
	<210> 191	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 191	
	ctgaacagga tctatttgag gcgctaaa	28
	<210> 192	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 192	
	aaaagcaca tagagtecta caggctcg	28
	<210> 193	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 193	
	caaagcatat agagtcctac aggctcgc	28
	<210> 194	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 194	

	aaagcacata gagtcctaca ggctcgca	28
	<210> 195	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 195	
	agcacataga gtctacagg ctgcatg	28
	<210> 196	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 196	
	gcacatagag tcctacaggc tcgcatg	28
	<210> 197	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 197	
	cacatagagt cctacaggct cgcatgca	28
	<210> 198	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 198	
	acatagagtc ctacaggctc gcatgca	28
	<210> 199	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
[0021]	<400> 199	
	catagagtc tacaggctcg catgacc	28
	<210> 200	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 200	
	atagagtcct acaggctcgc atgcacct	28
	<210> 201	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 201	
	tagagtccta caggctcgca tgcacctc	28
	<210> 202	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 202	
	gatttagctc atgtagctga agaactgt	28
	<210> 203	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 203	
	atttagctca ttagctgaa gaatctgt	28
	<210> 204	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	

	<400> 204	
	ttagctcatg tagctgaaga atctgtag	28
	<210> 205	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 205	
	ctcatgtagc tgaagaatct gtagtggg	28
	<210> 206	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 206	
	catgtagctg aagaatctgt agtgggcg	28
	<210> 207	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 207	
	atgtagctga agaactctgta gtgggcgc	28
	<210> 208	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 208	
	gtagctgaag aatctgtagt gggcgctg	28
	<210> 209	
	<211> 28	
	<212> DNA	
[0022]	<213> 人工序列	
	<400> 209	
	tagctgaaga atctgtagtg ggcgctgt	28
	<210> 210	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 210	
	gctgaagaat ctgtagtggg cgctgtcg	28
	<210> 211	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 211	
	ctgaagaatc tgtagtgggc gctgtcga	28
	<210> 212	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 212	
	atcccctacg gcatcacctc cgccatcg	28
	<210> 213	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 213	
	teccctacgg catcacctcc gccatcgt	28
	<210> 214	
	<211> 28	
	<212> DNA	

	<213> 人工序列	
	<400> 214	
	ccctacggca tcacctcgc catcgtcg	28
	<210> 215	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 215	
	cctacggcat cacctcggc atcgtcga	28
	<210> 216	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 216	
	ctacggcatc acctcggca tcgtcgac	28
	<210> 217	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 217	
	cgcatcacc tccgcatcg tcgactgg	28
	<210> 218	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 218	
	tgaaagccat gcgtctgaca tctatctg	28
	<210> 219	
	<211> 28	
[0023]	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 219	
	gaaagccatg cgtctgacat ctatctga	28
	<210> 220	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 220	
	aaagccatgc gtctgacatc tatctgat	28
	<210> 221	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 221	
	agccatgctg ctgacatcta tctgattg	28
	<210> 222	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 222	
	gcatgcgtc tgacatctat ctgattgt	28
	<210> 223	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 223	
	catgcgtctg acatctatct gattgttg	28
	<210> 224	
	<211> 28	

	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 224	
	atgcgtctga catctatctg attgttga	28
	<210> 225	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 225	
	gcgtctgaca tctatctgat tgttgaag	28
	<210> 226	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 226	
	cgctctgacat ctatctgatt gttgaaga	28
	<210> 227	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 227	
	ctgacatcta tctgattgtt gaagaagg	28
	<210> 228	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 228	
	cgtggaatac gggtttgcta aaagatta	28
[0024]	<210> 229	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 229	
	gtggaatacg ggtttgctaa aagattat	28
	<210> 230	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 230	
	tggaatacgg gtttgctaaa agattatt	28
	<210> 231	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 231	
	ggaatacggg ttgctaaaa gattatta	28
	<210> 232	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 232	
	gaatacgggt ttgctaaaag attattaa	28
	<210> 233	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 233	
	aatacgggtt tgctaaaaga ttattaa	28
	<210> 234	

	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 234	
	at <u>acggg</u> ttt gctaaaagat tattaat	28
	<210> 235	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 235	
	tac <u>gggtt</u> g ctaaaagatt attaaata	28
	<210> 236	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 236	
	ac <u>gggtt</u> gc taaaagatta ttaaatac	28
	<210> 237	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 237	
	c <u>gggtt</u> gct aaaagattat taaataca	28
	<210> 238	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 238	
[0025]	tac <u>cccag</u> ca ctcaat <u>g</u> cggtt tacacca	28
	<210> 239	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 239	
	ac <u>cccag</u> cac tcaat <u>g</u> cggtt tacaccac	28
	<210> 240	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 240	
	cc <u>ccagc</u> act caat <u>g</u> cggtt acaccact	28
	<210> 241	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 241	
	cc <u>cagc</u> actc aat <u>g</u> cggtta caccactt	28
	<210> 242	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 242	
	cc <u>agc</u> actca at <u>g</u> cggttac accacttt	28
	<210> 243	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 243	
	c <u>agc</u> actcaa t <u>g</u> cggttaca ccactttt	28

	<210> 244	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 244	
	gcactcaatg cggttacacc acttttag	28
	<210> 245	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 245	
	cactcaatgc gggttacacca ctttagt	28
	<210> 246	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 246	
	actcaatgcg gttacaccac ttttagta	28
	<210> 247	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 247	
	ctcaatgcbg ttacaccact ttttagta	28
	<210> 248	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 248	
[0026]	aaatcttaat tgagcaggct gtttggg	28
	<210> 249	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 249	
	aatcttaatt gagcaggctg ttttgggc	28
	<210> 250	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 250	
	tcttaattga gcaggctgtt ttgggctg	28
	<210> 251	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 251	
	ttaattgagc aggctgtttt gggctgtg	28
	<210> 252	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 252	
	attgagcagg ctgttttggg ctgtgagg	28
	<210> 253	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 253	

	ttgagcaggc tgtttgggc tgtgaggt	28
	<210> 254	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 254	
	agcaggctgt ttgggctgt gaggtcgg	28
	<210> 255	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 255	
	acggaagaac ttaacgctgc gatagaag	28
	<210> 256	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 256	
	gaagaactta acgctgcgat agaagcgg	28
	<210> 257	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 257	
	aagaacttaa cgetgcgata gaagcggc	28
	<210> 258	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
[0027]	<400> 258	
	aacttaacgc tgcgatagaa gcggcagg	28
	<210> 259	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 259	
	acttaacgct gcgatagaag cggcagga	28
	<210> 260	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 260	
	cttaacgctg cgatagaagc ggcaggac	28
	<210> 261	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 261	
	ttaacgctgc gatagaagcg gcaggaca	28
	<210> 262	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 262	
	taacgctgcg atagaagcgg caggacaa	28
	<210> 263	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	

	<400> 263	
	aacgctgcga tagaagcggc aggacaat	28
	<210> 264	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 264	
	acgctgcgat agaagcggca ggacaata	28
	<210> 265	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 265	
	ttgaactaat gaacctgcct tatgttgg	28
	<210> 266	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 266	
	tgaactaatg aacctgcctt atgttgg	28
	<210> 267	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 267	
	aactaatgaa cctgccttat gttggtg	28
	<210> 268	
	<211> 28	
	<212> DNA	
[0028]	<213> 人工序列	
	<400> 268	
	actaatgaac ctgccttatg ttggtgc	28
	<210> 269	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 269	
	ctaatgaacc tgccttatgt tggttgcc	28
	<210> 270	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 270	
	taatgaacct gccttatgtt ggttgcca	28
	<210> 271	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 271	
	atgaacctgc cttatgttgg tgccatg	28
	<210> 272	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 272	
	tgaacctgcc ttatgttgg tgccatgt	28
	<210> 273	
	<211> 28	
	<212> DNA	

	<213> 人工序列	
	<400> 273	
	aacctgcctt atgttggttg ccatgtcg	28
	<210> 274	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 274	
	acctgcctta tgttggtgc catgtcgc	28
	<210> 275	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 275	
	aatcaatac tatgccgggc tttacgag	28
	<210> 276	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 276	
	aatcaatac atgccgggct ttacgagt	28
	<210> 277	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 277	
	atcaacta tgccgggctt tacgagtc	28
	<210> 278	
	<211> 28	
[0029]	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 278	
	tcaactat gccgggctt acgagtc	28
	<210> 279	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 279	
	caactatg ccgggctta cgagtcac	28
	<210> 280	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 280	
	aactatgc cgggcttac gagtcact	28
	<210> 281	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 281	
	atactatgc gggcttacg agtcactc	28
	<210> 282	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 282	
	tactatgcc ggtttacga gtcactcc	28
	<210> 283	
	<211> 28	

	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 283	
	ctatgccggg ctttacgagt cactcccg	28
	<210> 284	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 284	
	tatgccgggc ttacgagtc actcccg	28
	<210> 285	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 285	
	ggaacatgat gtttcagtga aatctcgg	28
	<210> 286	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 286	
	gaacatgatg ttcagtga atctcgga	28
	<210> 287	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 287	
	catgatggtt cagtgaaatc tgcgatgg	28
	<210> 288	
[0030]	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 288	
	gatgttcag tgaaatctgc gatggagg	28
	<210> 289	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 289	
	atgttcagt gaaatctgcg atggaggt	28
	<210> 290	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 290	
	gttcagtga aatctcgat ggaggttg	28
	<210> 291	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 291	
	ttcagtga atctcgatg gaggttgc	28
	<210> 292	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 292	
	catggaggtt atggtgagaa tgggtcta	28
	<210> 293	

	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 293	
	tggaggttat ggtgagaatg gtgctatg	28
	<210> 294	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 294	
	ggaggttatg gtgagaatgg tgctatgc	28
	<210> 295	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 295	
	ggtatggtga gaatggtgct atgcaggg	28
	<210> 296	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 296	
	tatggtgaga atggtgctat gcaggggag	28
	<210> 297	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 297	
[0031]	atggtgagaa tgggtgctatg cagggagt	28
	<210> 298	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 298	
	tgtgagaat ggtgctatgc agggagta	28
	<210> 299	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 299	
	ggtgagaatg gtgctatgca gggagtat	28
	<210> 300	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 300	
	gtgagaatgg tgctatgcag ggagtatt	28
	<210> 301	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 301	
	gagaatggtg ctatgcaggg agtatttg	28
	<210> 302	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 302	
	gcagaagttc gtctcaagt tagcggga	28

	<210> 303	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 303	
	cagaagttcg tctcaagtt agcgggat	28
	<210> 304	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 304	
	agaagttcgt cctcaagta gcgggat	28
	<210> 305	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 305	
	gaagtcgtc ctcaagtag cgggatta	28
	<210> 306	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 306	
	aagtcgtcc tcaagtagc gggattat	28
	<210> 307	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 307	
[0032]	agttcgtcct caagtagcg ggattatc	28
	<210> 308	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 308	
	gttcgtctc aagtagcgg gattatcc	28
	<210> 309	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 309	
	tgtctctcaa gttagcggga ttatctg	28
	<210> 310	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 310	
	cgctctcaag ttagcgggat tctctga	28
	<210> 311	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 311	
	tctcaagtt agcgggatta tctgaag	28
	<210> 312	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 312	

	ccaaaagagg gcgggatagg ctagagcc	28
	<210> 313	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 313	
	caaaagaggg cgggataggc tagagccc	28
	<210> 314	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 314	
	aaaagagggc gggataggct agagcccc	28
	<210> 315	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 315	
	aaagagggcg ggataggcta gagcccct	28
	<210> 316	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 316	
	aagagggcgg gataggctag agccccta	28
	<210> 317	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
[0033]	<400> 317	
	agagggcggg ataggctaga gccccat	28
	<210> 318	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 318	
	agggcgggat aggctagagc ccctatag	28
	<210> 319	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 319	
	gggcgggata ggctagagcc cctatagc	28
	<210> 320	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 320	
	ggcgggatag gctagagccc ctatagca	28
	<210> 321	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 321	
	gcgggatagg ctagagcccc tatagcac	28
	<210> 322	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	

	<400> 322	
	agtaccgatg gaagtgatcc ccatgaaa	28
	<210> 323	
	<211> 27	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 323	
	taccgatgga agtgatcccc atgaaaa	27
	<210> 324	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 324	
	ccgatggaag tgatcccat gaaaagtg	28
	<210> 325	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 325	
	cgatggaagt gatcccatg aaaagtgc	28
	<210> 326	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 326	
	gatggaagtg atcccatga aaagtgca	28
	<210> 327	
	<211> 28	
	<212> DNA	
[0034]	<213> 人工序列	
	<400> 327	
	atggaagtga tcccatgaa aagtgc	28
	<210> 328	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 328	
	tggaagtgat cccatgaaa agtgc	28
	<210> 329	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 329	
	ggaagtgatc cccatgaaa gtgc	28
	<210> 330	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 330	
	gaagtgatcc ccatgaaaag tgc	28
	<210> 331	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 331	
	agtgatcccc atgaaaagtg catccctg	28
	<210> 332	
	<211> 28	
	<212> DNA	

	<213> 人工序列	
	<400> 332	
	gagccgattc ttaagatgg gccttaat	28
	<210> 333	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 333	
	agccgattct ttaagatggg ccttaatt	28
	<210> 334	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 334	
	gccgattctt taagatgggc ctaattt	28
	<210> 335	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 335	
	gattcttaa gatgggcctt aattcgg	28
	<210> 336	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 336	
	attcttaag atgggcctta attcggga	28
	<210> 337	
	<211> 28	
[0035]	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 337	
	ticttaaga tgggccttaa ttccgat	28
	<210> 338	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 338	
	ctttaaagatg ggccttaatt tcggatag	28
	<210> 339	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 339	
	ttaagatggg ccttaatttc ggatagtg	28
	<210> 340	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 340	
	taagatgggc ctaatttcg gatagtgc	28
	<210> 341	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 341	
	aagatgggcc ttaatttcgg atagtgc	28
	<210> 342	
	<211> 28	

	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 342	
	ggaaaccatt gccaataga cgtaacgt	28
	<210> 343	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 343	
	aaaccattgc caaatagacg taacgtcg	28
	<210> 344	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 344	
	aaccattgcc aaatagacgt aacgtcgt	28
	<210> 345	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 345	
	accattgccaa atagacgta acgtcgtt	28
	<210> 346	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 346	
	ccattgccaa atagacgtaa cgtcgttc	28
	<210> 347	
[0036]	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 347	
	cattgccaaa tagacgtaac gtcgttct	28
	<210> 348	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 348	
	attgccaaat agacgtaacg tcgttctc	28
	<210> 349	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 349	
	ttgccaaata gacgtaacgt cgttctca	28
	<210> 350	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 350	
	tgccaaatag acgtaacgtc gttctcac	28
	<210> 351	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 351	
	gccaaataga cgtaacgtcg ttctcact	28
	<210> 352	

	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 352	
	ttgttcgat ggataagaaa agagtaat	28
	<210> 353	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 353	
	ttcggatgga taagaaaaga gtaatcgg	28
	<210> 354	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 354	
	tccgatggat aagaaaagag taatcggc	28
	<210> 355	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 355	
	gcgatggata agaaaagagt aatcggca	28
	<210> 356	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 356	
[0037]	atggataaga aaagagtaat cggcaagg	28
	<210> 357	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 357	
	tggataagaa aagagtaatc ggcaaggga	28
	<210> 358	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 358	
	ggataagaaa agagtaatcg gcaaggat	28
	<210> 359	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 359	
	gataagaaaa gagtaatcgg caaggata	28
	<210> 360	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 360	
	ataagaaaag agtaatcggc aaggataa	28
	<210> 361	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 361	
	aagaaaagag taatcggcaa ggataacg	28

	<210> 362	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 362	
	ctacggtcat gcggaagaac gtcgtgcg	28
	<210> 363	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 363	
	tacggtcatg cggaagaacg tcgtgcca	28
	<210> 364	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 364	
	acggtcatgc ggaagaacgt cgtgcgat	28
	<210> 365	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 365	
	cggtcatcgc gaagaacgtc gtgcgata	28
	<210> 366	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 366	
[0038]	ggtcatcggc aagaacgtcg tgcgat	28
	<210> 367	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 367	
	gtcatcggga agaacgtcgt gcgatatc	28
	<210> 368	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 368	
	catcgggaag aacgtcgtgc gatatctg	28
	<210> 369	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 369	
	tgcggaagaa cgtcgtgcca tatctgcg	28
	<210> 370	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 370	
	gcggaagaac gtcgtgcgat atctgcbc	28
	<210> 371	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 371	

	ggaagaacgt cgtgcgatat ctgcgctg	28
	<210> 372	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 372	
	tcctcacaaa gcaactactg atggattc	28
	<210> 373	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 373	
	cctcacaag caactactga tggattcc	28
	<210> 374	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 374	
	ctcacaagc aactactgat ggattcca	28
	<210> 375	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 375	
	tcacaagca actactgatg gattccac	28
	<210> 376	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
[0039]	<400> 376	
	cacaagcaa ctactgatgg attccacc	28
	<210> 377	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 377	
	acaaagcaac tactgatgga ttccacca	28
	<210> 378	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 378	
	caaagcaact actgatggat tccaccaa	28
	<210> 379	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 379	
	aaagcaacta ctgatggatt ccaccaat	28
	<210> 380	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 380	
	aagcaactac tgatggattc caccaata	28
	<210> 381	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	

	<400> 381	
	agcaactact gatggattcc accaatat	28
	<210> 382	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 382	
	ttatctacac gacggggagt caggcaac	28
	<210> 383	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 383	
	tatctacacg acggggagtc aggcaact	28
	<210> 384	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 384	
	atctacacga cggggagtca ggcaacta	28
	<210> 385	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 385	
	tacacgacgg ggagtcaggc aactatgg	28
	<210> 386	
	<211> 28	
	<212> DNA	
[0040]	<213> 人工序列	
	<400> 386	
	acacgacggg gagtcaggca actatgga	28
	<210> 387	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 387	
	acgacgggga gtcaggcaac tatggatg	28
	<210> 388	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 388	
	cgacggggag tcaggcaact atggatga	28
	<210> 389	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 389	
	gacggggagt caggcaacta tggatgaa	28
	<210> 390	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 390	
	cggggagtca ggcaactatg gatgaacg	28
	<210> 391	
	<211> 28	
	<212> DNA	

	<213> 人工序列	
	<400> 391	
	ggggagtcag gcaactatgg atgaacga	28
	<210> 392	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 392	
	taacaaagca gagcgcacgc tggtgatt	28
	<210> 393	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 393	
	aacaaagcag agcgcacgcg ggtgatt	28
	<210> 394	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 394	
	acaagcaga gcgcacgcg gtgattta	28
	<210> 395	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 395	
	caaagcagag gcgcacgcgg tgatttat	28
	<210> 396	
	<211> 28	
[0041]	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 396	
	aaagcagagc gcacgcggg gatttatc	28
	<210> 397	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 397	
	agcagagcgc atcgtggtga ttatctg	28
	<210> 398	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 398	
	gagcgcacgc tggtgattta tctcggg	28
	<210> 399	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 399	
	agcgcacgcg ggtgatttat ctgcggga	28
	<210> 400	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 400	
	gcgcacgcg gtgatttat tgcgggat	28
	<210> 401	
	<211> 28	

	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 401	
	atgagacggtt tcgtctggat cgactga	28
	<210> 402	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 402	
	tgagacggtt cgtctggatc gcactgaa	28
	<210> 403	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 403	
	gagacgtttc gtctggatcg cactgaac	28
	<210> 404	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 404	
	agacgtttcg tctggatcgc actgaacc	28
	<210> 405	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 405	
	gacgtttcgt ctggatcgca ctgaacct	28
	<210> 406	
[0042]	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 406	
	acgtttcgtc tggatcgcac tgaacct	28
	<210> 407	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 407	
	gtttcgtctg gatcgactg aacctacg	28
	<210> 408	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 408	
	ttcgtctgg atcgactga acctacgc	28
	<210> 409	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 409	
	tcgtctggat cgactgaac ctacgctg	28
	<210> 410	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 410	
	cgtctggatc gcactgaacc tacgctga	28
	<210> 411	

	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 411	
	aagaagagcg acctggtaa ctacaatc	28
	<210> 412	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 412	
	agaagagcga cctggtaac tacaatcc	28
	<210> 413	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 413	
	gaagagcgac ctggtaact acaatccc	28
	<210> 414	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 414	
	aagagcgacc tggtaacta caatccca	28
	<210> 415	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 415	
[0043]	agagcgacct ggttaactac aatcccat	28
	<210> 416	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 416	
	agcgacctgg ttaactacaa tcccattg	28
	<210> 417	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 417	
	gacctggtta actacaatcc cattcggg	28
	<210> 418	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 418	
	cctggtaac tacaatccca ttgcggag	28
	<210> 419	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 419	
	ctggtaact acaatcccat tgcggaga	28
	<210> 420	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 420	
	tggtaacta caatcccat ggcggaga	28

	<210> 421	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 421	
	gcggtgctga agaaaagtga aagcgaac	28
	<210> 422	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 422	
	ggtgctgaag aaaagtgaaa gcgaaccg	28
	<210> 423	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 423	
	gtgctgaaga aaagtgaaag cgaaccga	28
	<210> 424	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 424	
	tgctgaagaa aagtgaaagc gaaccgaa	28
	<210> 425	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 425	
[0044]	gctgaagaaa agtgaaagcg aaccgaat	28
	<210> 426	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 426	
	ctgaagaaaa gtgaaagcga accgaatc	28
	<210> 427	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 427	
	gaagaaaagt gaaagcgaac cgaatctg	28
	<210> 428	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 428	
	aagaaaagtg aaagcgaacc gaatctgt	28
	<210> 429	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 429	
	agaaaagtga aagcgaaccg aatctgtt	28
	<210> 430	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 430	

	gaaaagtgaa agcgaaccga atctgtta	28
	<210> 431	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 431	
	ggccactaat gatttaggta tcattctg	28
	<210> 432	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 432	
	gccactaatg atttaggtat cattctgt	28
	<210> 433	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 433	
	cactaatgat ttaggtatca ttctgttg	28
	<210> 434	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 434	
	actaatgatt taggtatcat tctgttgc	28
	<210> 435	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
[0045]	<400> 435	
	ctaagtatt aggtatcatt ctgttgcc	28
	<210> 436	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 436	
	aatgatttag gtatcattct gttgcctg	28
	<210> 437	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 437	
	atgatttagg tateattctg ttgcctga	28
	<210> 438	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 438	
	atttaggtat cattctgttg cctgatgg	28
	<210> 439	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 439	
	ttaggtatc attctgttgc ctgatgga	28
	<210> 440	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	

	<400> 440	
	agattacccc tcaagacctt tgcctaa	28
	<210> 441	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 441	
	gattaccctt caagacctt tgcctaaa	28
	<210> 442	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 442	
	attacccttc aagaccttt gcctaaaa	28
	<210> 443	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 443	
	taccctcaa gacctttgc ctaaacg	28
	<210> 444	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 444	
	ccctcaagac ctttgccta aaacgtgg	28
	<210> 445	
	<211> 28	
	<212> DNA	
[0046]	<213> 人工序列	
	<400> 445	
	ctcaagacct tttgcctaaa acgtggag	28
	<210> 446	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 446	
	tcaagacctt tgcctaaaa cgtggagt	28
	<210> 447	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 447	
	caagacctt tgcctaaaac gtggagtc	28
	<210> 448	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 448	
	agacctttg ctaaaaact ggagtccg	28
	<210> 449	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 449	
	gacctttgc ctaaacgtg gagtccga	28
	<210> 450	
	<211> 28	
	<212> DNA	

	<213> 人工序列	
	<400> 450	
	catccagccg ctgctcaagg agcacagg	28
	<210> 451	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 451	
	atccagccgc tgctcaagga gcacagga	28
	<210> 452	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 452	
	tccagccgct gctcaaggag cacaggat	28
	<210> 453	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 453	
	cactccattt acggctaaag atactgaa	28
	<210> 454	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 454	
	actccattta cggctaaaga tactgaaa	28
	<210> 455	
	<211> 28	
[0047]	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 455	
	tccatttacg gctaaagata ctgaaaag	28
	<210> 456	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 456	
	ccatttacgg ctaaagatac tgaaaagt	28
	<210> 457	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 457	
	catttacggc taaagatact gaaaagtt	28
	<210> 458	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 458	
	tftacggcta aagatactga aaagttag	28
	<210> 459	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 459	
	ttacggctaa agatactgaa aagttagt	28
	<210> 460	
	<211> 28	

	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 460	
	tacggctaaa gatactgaaa agttagtc	28
	<210> 461	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 461	
	acggctaaag atactgaaaa gttagtca	28
	<210> 462	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 462	
	cggctaaaga tactgaaaag ttagtcac	28
	<210> 463	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 463	
	catttcata gcgacagcac gggcggaa	28
	<210> 464	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 464	
	attttcatag cgacagcacg ggcggaat	28
	<210> 465	
[0048]	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 465	
	tttcatagcg acagcacggg cggaatag	28
	<210> 466	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 466	
	tcatagcgac agcacgggcg gaatagag	28
	<210> 467	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 467	
	tagcgacagc acgggcggaa tagagtgg	28
	<210> 468	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 468	
	agcgacagca cgggcggaat agagtggc	28
	<210> 469	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 469	
	gcgacagcac gggcggaata gagtggct	28
	<210> 470	

	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 470	
	cgacagcacg ggcggaatag agtggctt	28
	<210> 471	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 471	
	gacagcacgg gcggaataga gtggctta	28
	<210> 472	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 472	
	acagcacggg cggaaatagag tggcttaa	28
	<210> 473	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 473	
	aaaatgttga atgccctgat cggattgg	28
	<210> 474	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 474	
[0049]	aatgttgaat gccctgatcg gattggag	28
	<210> 475	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 475	
	atgttgaatg ccctgatcgg attggaga	28
	<210> 476	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 476	
	tgttgaatgc cctgatcga ttggagaa	28
	<210> 477	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 477	
	gttgaatgcc ctgatcggat tggagaac	28
	<210> 478	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 478	
	tgaatgccc tgatcggatt ggagaacc	28
	<210> 479	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 479	
	gaatgccctg atcggattgg agaaccag	28

	<210> 480	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 480	
	aatgccctga tcggattgga gaaccaga	28
	<210> 481	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 481	
	atgccctgat cggattggag aaccagaa	28
	<210> 482	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 482	
	gccctgatcg gattggagaa ccagaaag	28
	<210> 483	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 483	
	aatgggtgtt actccacagg taggttg	28
	<210> 484	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 484	
[0050]	atgggtgta ctccacaggt aggttgg	28
	<210> 485	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 485	
	gggtgttact ccacaggtag gttgttg	28
	<210> 486	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 486	
	ggtgttactc cacaggtagg ttggtga	28
	<210> 487	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 487	
	gtgttactcc acaggtagg ttggtgac	28
	<210> 488	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 488	
	ttactcaca gtaggttg ttgactgg	28
	<210> 489	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 489	

	tactccacag gtaggttggg tgactggg	28
	<210> 490	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 490	
	ccacaggttag gttggttgac tgggtggg	28
	<210> 491	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 491	
	gtgatggtga tgagttgctt ttgatga	28
	<210> 492	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 492	
	tgatggtgat gaggcttt tgattgat	28
	<210> 493	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 493	
	gatggtgatg agttgcttt gattgata	28
	<210> 494	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
[0051]	<400> 494	
	atggtgatga gttgctttg attgatac	28
	<210> 495	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 495	
	ggtgatgagt tgctttgat tgatacag	28
	<210> 496	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 496	
	tgatgattg cttttgattg atacagcg	28
	<210> 497	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 497	
	agttgcttt gattgataca gctgggg	28
	<210> 498	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 498	
	ctgcggtgca gcttagcgac aatggggc	28
	<210> 499	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	

	<400> 499	
	tgcggtgcag cttagcgaca atggggct	28
	<210> 500	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 500	
	gcggtgcagc ttagcgacaa tggggcta	28
	<210> 501	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 501	
	cggtgcagct tagcgacaat ggggctac	28
	<210> 502	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 502	
	ggtgcagctt agcgacaatg gggctact	28
	<210> 503	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 503	
	gtgcagctta gcgacaatgg ggctacta	28
	<210> 504	
	<211> 28	
	<212> DNA	
[0052]	<213> 人工序列	
	<400> 504	
	tgtagcttag cgacaatggg gctactaa	28
	<210> 505	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 505	
	gcagcttagc gacaatgggg ctactaac	28
	<210> 506	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 506	
	cagcttagcg acaatggggc tactaacc	28
	<210> 507	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 507	
	agcttagcga caatggggct actaacct	28
	<210> 508	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 508	
	aactcaaat gaaacaagga gaaactgg	28
	<210> 509	
	<211> 28	
	<212> DNA	

	<213> 人工序列	
	<400> 509	
	actcaaatg aaacaaggag aaactggc	28
	<210> 510	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 510	
	tcaaatgaa acaaggagaa actggcag	28
	<210> 511	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 511	
	caaatgaaa caaggagaaa ctggcaga	28
	<210> 512	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 512	
	aaatgaaac aaggagaaac tggcagac	28
	<210> 513	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 513	
	aatgaaaca aggagaaact ggcagaca	28
	<210> 514	
	<211> 28	
[0053]	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 514	
	aatgaaaca ggagaaactg gcagacaa	28
	<210> 515	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 515	
	atgaaacaag gagaactgg cagacaaa	28
	<210> 516	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 516	
	tgaacaagg agaaactggc agacaaat	28
	<210> 517	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 517	
	acaaggagaa actggcagac aaattggg	28
	<210> 518	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 518	
	ccttcagct tcattcatgct gtatgtga	28
	<210> 519	
	<211> 28	

	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 519	
	tgcagcttca tcatgctgta tgtgatgg	28
	<210> 520	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 520	
	gcagcttcat catgctgtat gtgatggt	28
	<210> 521	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 521	
	cagcttcatc atgctgtatg tgatgggt	28
	<210> 522	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 522	
	agcttcatca tgctgtatgt gatgggta	28
	<210> 523	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 523	
	gcttcatcat gctgtatgtg atggttac	28
	<210> 524	
[0054]	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 524	
	cttcatcatg ctgtatgtga tggttacc	28
	<210> 525	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 525	
	tcatcatgc tgtatgtgat ggttacca	28
	<210> 526	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 526	
	catcatgctg tatgtgatgg ttaccatg	28
	<210> 527	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 527	
	atcatgctgt atgtgatggt taccatgc	28
	<210> 528	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 528	
	gagctgtacg ccgagtggtc ggaggtcg	28
	<210> 529	

	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 529	
	gctgtacgcc gagtgtcgg aggtcgtg	28
	<210> 530	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 530	
	ctgtacgccg agtgtcggg ggtcgtgt	28
	<210> 531	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 531	
	tgtacccga gtgtcggag gtcgtgtc	28
	<210> 532	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 532	
	gtacccgag tgtcggagg tcgtgtcc	28
	<210> 533	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 533	
[0055]	taaccgagt gtcggagt cgtgtcca	28
	<210> 534	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 534	
	cgccgagtgg tcggagtgc gtccaccg	28
	<210> 535	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 535	
	gccgagtgt cggagtcgt gtccaccg	28
	<210> 536	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 536	
	ccgagtgtc ggagtcgtg tccaccga	28
	<210> 537	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 537	
	cgagtgtcg gagtcgtgt ccaccgaa	28
	<210> 538	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 538	
	ccattcatct caatgaccac aaagcagt	28

	<210> 539	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 539	
	cattcatctc aatgagcaca aagcagtc	28
	<210> 540	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 540	
	tcatttcaat gagcacaag cagtcagg	28
	<210> 541	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 541	
	atctcaatga gcacaagca gtcaggag	28
	<210> 542	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 542	
	tctcaatgag cacaaagcag tcaggagc	28
	<210> 543	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 543	
[0056]	ctcaatgagc acaaagcagt caggagca	28
	<210> 544	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 544	
	tcaatgagca caaagcagtc aggagcat	28
	<210> 545	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 545	
	aatgagcaca aagcagtcag gagcatag	28
	<210> 546	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 546	
	atgagcaca agcagtcagg agcatagt	28
	<210> 547	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 547	
	tgagcacaaa gcagtcagga gcatagtc	28
	<210> 548	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 548	

	gccacatcga gcggtcacc gagctgca	28
	<210> 549	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 549	
	cacatcgagc gggtcaccga gctgcaag	28
	<210> 550	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 550	
	acatcgagcg ggtcaccgag ctgcaaga	28
	<210> 551	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 551	
	catcgagcgg gtcaccgagc tgcaagaa	28
	<210> 552	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 552	
	atcgagcggg tcaccgagct gcaagaac	28
	<210> 553	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
[0057]	<400> 553	
	tcgagcgggt caccgagctg caagaact	28
	<210> 554	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 554	
	cgagcgggtc accgagctgc aagaactc	28
	<210> 555	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 555	
	gagcgggtca ccgagctgca agaactct	28
	<210> 556	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 556	
	agcgggtcac cgagctgcaa gaactctt	28
	<210> 557	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 557	
	gcgggtcacc gagctgcaag aactcttc	28
	<210> 558	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	

	<400> 558	
	gaatgaataa cggtttggtt gatgcgag	28
	<210> 559	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 559	
	atgaataacg gtttggtga tgcgagtg	28
	<210> 560	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 560	
	tgaataacgg ttggttgat gcgagtg	28
	<210> 561	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 561	
	gaataacggt ttggttgatg cgagtgat	28
	<210> 562	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 562	
	aataacggtt tgggtgatgc gagtgatt	28
	<210> 563	
	<211> 28	
	<212> DNA	
[0058]	<213> 人工序列	
	<400> 563	
	ataacggtt ggttgatgcg agtgattt	28
	<210> 564	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 564	
	aacggttgg ttgatgcgag tgatttgg	28
	<210> 565	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 565	
	acggttggg ttgatgcgagt gatttga	28
	<210> 566	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 566	
	ggttgggtg atgcgagtg tttgatg	28
	<210> 567	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 567	
	gttgggtga tgcgagtgat ttgatga	28
	<210> 568	
	<211> 28	
	<212> DNA	

	<213> 人工序列	
	<400> 568	
	ccgtcacctt ggatgctgta gcataggg	28
	<210> 569	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 569	
	cgtcaccctg gatgctgtag gcataggg	28
	<210> 570	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 570	
	gtcacctgg atgctgtagg catagggc	28
	<210> 571	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 571	
	acgacgggga gtcaggcaac tatggatg	28
	<210> 572	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 572	
[0059]	cgacggggag tcaggcaact atggatga	28
	<210> 573	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 573	
	gacggggagt caggcaacta tggatgaa	28
	<210> 574	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 574	
	cggggagtca gcgaactatg gatgaacg	28
	<210> 575	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 575	
	gcgaatgat ggtgaaacc ggtcttg	28
	<210> 576	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 576	
	cgaaatgatg gttgaaaccg ggtcttg	28
	<210> 577	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 577	
	gaatgatgg ttgaaaccgg gtcttg	28
	<210> 578	
	<211> 28	

	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 578	
	tgatggttg aaaccgggtc ttgtcgg	28
	<210> 579	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 579	
	ggatggttga aaccgggtct tttcggc	28
	<210> 580	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 580	
	gatggttga accgggtctt gttcggca	28
	<210> 581	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 581	
	atggttgaac ccgggtcttg ttcggcat	28
	<210> 582	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 582	
	tggttgaac ccgggtcttg ttcggcatc	28
	<210> 583	
[0060]	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 583	
	tcggttaaat accgacctgc atgaatgg	28
	<210> 584	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 584	
	ggttaaac cgacctgc atgaatggc	28
	<210> 585	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 585	
	gttaaatacc gacctgc atgaatggc	28
	<210> 586	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 586	
	ttaaatacc gacctgc atgaatggc	28
	<210> 587	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 587	
	taaataacc gacctgc atgaatggc	28
	<210> 588	

	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 588	
	aataccgacc tgcataaatg gcgtaacg	28
	<210> 589	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 589	
	taccgacctg catgaatggc gtaacgag	28
	<210> 590	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 590	
	accgacctgc atgaatggcg taacgaga	28
	<210> 591	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 591	
	acctgcatga atggcgtaac gagatggg	28
	<210> 592	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 592	
[0061]	ctgcatgaat ggcgtaacga gatggggg	28
	<210> 593	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 593	
	ggagtacggt cgcaagatta aaactcaa	28
	<210> 594	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 594	
	gtacgctcgc aagattaaaa ctcaaagg	28
	<210> 595	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 595	
	tacggctgca agattaaaac tcaaagga	28
	<210> 596	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 596	
	acggtcgcaa gattaaaact caaaggaa	28
	<210> 597	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 597	
	cggtcgcaag attaaaactc aaaggaaat	28

	<210> 598	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 598	
	gtcgcaagat taaaactcaa aggaattg	28
	<210> 599	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 599	
	tcgcaagatt aaaactcaaa ggaattga	28
	<210> 600	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 600	
	tcaacagcaa cattaactcg ttgctgc	28
	<210> 601	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 601	
	caacagcaac attaactcgt ttgctgct	28
	<210> 602	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 602	
[0062]	aacagcaaca ttaactcgtt ggtcgtc	28
	<210> 603	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 603	
	acagcaacat taactcgttg gtcgtca	28
	<210> 604	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 604	
	cagcaacatt aactcgttgg tcgctcaa	28
	<210> 605	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 605	
	agcaacatta actcgttgg cgctcaac	28
	<210> 606	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 606	
	caacattaac tcgttggtcg ctcaacag	28
	<210> 607	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 607	

	aacattaact cgttggtcgc tcaacaga	28
	<210> 608	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 608	
	acattaactc gttggtcgcet caacagaa	28
	<210> 609	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 609	
	cattaactcg ttggtcgcctc aacagaac	28
	<210> 610	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 610	
	cgctgggga gtacggtcgc aagattaa	28
	<210> 611	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 611	
	gcctggggag tacggtcgca agattaa	28
	<210> 612	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
[0063]	<400> 612	
	cctggggagt acggtcgcaa gattaa	28
	<210> 613	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 613	
	ctggggagta cgtcgcaag attaaac	28
	<210> 614	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 614	
	tggggagtac ggtcgcaaga taaaact	28
	<210> 615	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 615	
	ggggagtacg gtcgcaagat taaaactc	28
	<210> 616	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 616	
	gggagtacgg tcgcaagatt aaaactca	28
	<210> 617	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	

	<400> 617	
	ggagtacggt cgcaagatta aaactcaa	28
	<210> 618	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 618	
	gtacggtcgc aagattaata ctcaaagg	28
	<210> 619	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 619	
	tacggtcgca agattaatac tcaaagga	28
	<210> 620	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 620	
	cgtaaggatg caaacatcaa atcggtcg	28
	<210> 621	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 621	
	gtaaggatgc aaacatcaa tcggtcgc	28
	<210> 622	
	<211> 28	
	<212> DNA	
[0064]	<213> 人工序列	
	<400> 622	
	aaggatgcaa acatcaaatc ggtcgcag	28
	<210> 623	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 623	
	aggatgcaaa catcaaatcg gtcgcaga	28
	<210> 624	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 624	
	ggatgcaaac atcaaatcgg tcgcagac	28
	<210> 625	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 625	
	gatgcaaca tcaaatcggc gcgagacc	28
	<210> 626	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 626	
	tgcaaacatc aatcggctg cagacctg	28
	<210> 627	
	<211> 28	
	<212> DNA	

	<213> 人工序列	
	<400> 627	
	gcaaacatca aatcggtcgc agacctga	28
	<210> 628	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 628	
	caaacatcaa atcggtcgca gacctgaa	28
	<210> 629	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 629	
	gccgcaacct acgactcata cattggcg	28
	<210> 630	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 630	
	ccgcaaccta cgactcatac attggcga	28
	<210> 631	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 631	
	cgcaacctac gactcataca ttggcgat	28
	<210> 632	
	<211> 28	
[0065]	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 632	
	gcaacctacg actcatacat tggcgata	28
	<210> 633	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 633	
	caacctacga tcatacatt ggcgatac	28
	<210> 634	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 634	
	aacctacgac tcatacattg gcgatact	28
	<210> 635	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 635	
	acctacgact catacattgg cgatactt	28
	<210> 636	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 636	
	cctacgactc atacattggc gatacttc	28
	<210> 637	
	<211> 28	

	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 637	
	ctacgactca tacattggcg atacttcc	28
	<210> 638	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 638	
	tacgactcat acattggcga tacttctc	28
	<210> 639	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 639	
	tgggtgтта tggggtcgtt ctacattg	28
	<210> 640	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 640	
	tgggtttat ggggtcgttc tacattga	28
	<210> 641	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 641	
	ggtgttatg ggggtcgttct acattgac	28
	<210> 642	
[0066]	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 642	
	tgtttatggg gtcgttctac attgacag	28
	<210> 643	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 643	
	gtttatgggg tcgttctaca ttgacaga	28
	<210> 644	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 644	
	ttatggggt cgttctacat tgacagaa	28
	<210> 645	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 645	
	ttatggggtc gttctacatt gacagaat	28
	<210> 646	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 646	
	tatggggtcg ttctacattg acagaatc	28
	<210> 647	

	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 647	
	atggggtcgt tctacattga cagaatcc	28
	<210> 648	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 648	
	tggggtcgtt ctacattgac agaatcct	28
	<210> 649	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 649	
	tttatggca cggacagaaa ctagcag	28
	<210> 650	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 650	
	gtatggcacg gacagaaact tagcagtg	28
	<210> 651	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 651	
[0067]	tggcacggac agaaacttag cagtgaag	28
	<210> 652	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 652	
	ggcacggaca gaaacttagc agtgagg	28
	<210> 653	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 653	
	gcacggacag aaacttagca gtgaggac	28
	<210> 654	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 654	
	cggacagaaa ctagcagtg aggactgg	28
	<210> 655	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 655	
	ggacagaaac ttagcagtga ggactgga	28
	<210> 656	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 656	
	acagaaactt agcagtgagg actggaag	28

	<210> 657	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 657	
	ggtacgctta ctctggcgg ctataaaa	28
	<210> 658	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 658	
	gtacgcttac tctggcggc tataaaac	28
	<210> 659	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 659	
	cgcttactct tggcggctat aaaacagg	28
	<210> 660	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 660	
	gcttactctt ggcggctata aacagga	28
	<210> 661	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 661	
[0068]	cttactcttg gcggtataa aacaggaa	28
	<210> 662	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 662	
	ttactcttgg cggctataaa acaggaac	28
	<210> 663	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 663	
	tactcttggc ggctataaaa caggaacc	28
	<210> 664	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 664	
	actcttggcg gctataaaac aggaacca	28
	<210> 665	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 665	
	ctcttggcgg ctataaaaca ggaaccac	28
	<210> 666	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 666	

	tcttggcggc tataaacag gaaccact	28
	<210> 667	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 667	
	tgctacaaa gggattgaat gttcatgg	28
	<210> 668	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 668	
	ggctacaaag ggattgaatg ttcattga	28
	<210> 669	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 669	
	gctacaaagg gattgaatgt tcatggaa	28
	<210> 670	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 670	
	tacaaagga ttgaatgttc atggaaag	28
	<210> 671	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
[0069]	<400> 671	
	caaagggatt gaatgttcat gaaagag	28
	<210> 672	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 672	
	aaagggattg aatgttcatg gaaagagt	28
	<210> 673	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 673	
	aagggattga atgttcatgg aaagagtt	28
	<210> 674	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 674	
	ggattgaatg ttcattgaaa gatttcgg	28
	<210> 675	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 675	
	gattgaatgt tcatggaaag agttcggg	28
	<210> 676	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	

	<400> 676	
	attgaatggt catggaaaga gttcggat	28
	<210> 677	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 677	
	aacttagaag gctgggtcaac aagtgaaa	28
	<210> 678	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 678	
	acttagaagg ctgggtcaaca agtgaaat	28
	<210> 679	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 679	
	cttagaaggc tgggtcaacaa gtgaaatt	28
	<210> 680	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 680	
	ttagaaggct ggtcaacaag tgaaatta	28
	<210> 681	
	<211> 28	
	<212> DNA	
[0070]	<213> 人工序列	
	<400> 681	
	agaaggctgg tcaacaagtg aaattatg	28
	<210> 682	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 682	
	gaaggctggt caacaagtga aattatgt	28
	<210> 683	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 683	
	aaggctggtc aacaagtgaa attatgtc	28
	<210> 684	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 684	
	aggctgtgca acaagtgaaa ttatgtct	28
	<210> 685	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 685	
	gctgggtcaac aagtgaaatt atgtctcg	28
	<210> 686	
	<211> 28	
	<212> DNA	

	<213> 人工序列	
	<400> 686	
	ctggccaaca agtgaaatta tgtctcgt	28
	<210> 687	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 687	
	tggtcttaca acatctcaag gaagcttg	28
	<210> 688	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 688	
	ggctttacaa catctcaagg aagcttgc	28
	<210> 689	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 689	
	gtcttacaac atctcaagga agcttgcc	28
	<210> 690	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 690	
	cttacaacat ctcaaggaag ctgcccag	28
	<210> 691	
	<211> 28	
[0071]	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 691	
	ttacaacatc tcaaggaagc ttgccagt	28
	<210> 692	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 692	
	tacaacatct caaggaagct tgccagta	28
	<210> 693	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 693	
	caacatctca aggaagcttg ccagtatg	28
	<210> 694	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 694	
	aacatctcaa ggaagcttgc cagtatgt	28
	<210> 695	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 695	
	catctcaagg aagcttgcca gtatgtg	28
	<210> 696	
	<211> 28	

	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 696	
	tctcaaggaa gcttgccagt atgttgcg	28
	<210> 697	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 697	
	caacaggtgc ttgggatgtg ggtggtgg	28
	<210> 698	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 698	
	aacaggtgct tgggatgtgg gtggtggt	28
	<210> 699	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 699	
	acaggtgctt gggatgtggg tgggtgct	28
	<210> 700	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 700	
	caggtgcttg ggatgtgggt ggtggtct	28
	<210> 701	
[0072]	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 701	
	aggtgcttgg gatgtgggtg gtggtctt	28
	<210> 702	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 702	
	ggtgcttggg atgtgggtgg tggcttta	28
	<210> 703	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 703	
	tgcttgggat gtgggtggtg gtcttaag	28
	<210> 704	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 704	
	gcttgggatg tgggtggtgg tcttaagt	28
	<210> 705	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 705	
	cttgggatgt ggtggtggt ctttaagt	28
	<210> 706	

	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 706	
	tgggatgtgg gtggtggtct taagtttg	28
	<210> 707	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 707	
	gcccgcagat ttacttctcc atgagtga	28
	<210> 708	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 708	
	cgcagattta ctctccatg agtgacgg	28
	<210> 709	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 709	
	gcagatttac ttctccatga gtgacgga	28
	<210> 710	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 710	
[0073]	cagattfact tctccatgag tgacggac	28
	<210> 711	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 711	
	agatttactt ctccatgagt gacggaca	28
	<210> 712	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 712	
	gatttactic tccatgagt acggacaa	28
	<210> 713	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 713	
	atttacttot ccatgagtga cggacaac	28
	<210> 714	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 714	
	ttacttctcc atgagtgacg gacaacag	28
	<210> 715	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 715	
	tacttctcca tgagtgacgg acaacaga	28

	<210> 716	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 716	
	acttctccat gagtgacgga caacagaa	28
	<210> 717	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 717	
	caagtaggta taacgggtat cggtgcca	28
	<210> 718	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 718	
	aagtaggtat aacgggtatc ggtgccaa	28
	<210> 719	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 719	
	agtaggtata acgggtatcg gtgcca	28
	<210> 720	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 720	
[0074]	gtaggtataa cgggtatcgg tgcca	28
	<210> 721	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 721	
	taggtataac gggtatcggg gccaaaa	28
	<210> 722	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 722	
	aggtataacg ggtatcgggt ccaaaaa	28
	<210> 723	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 723	
	ggtataacgg gtatcgggtc caaaaa	28
	<210> 724	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 724	
	tataacgggt atcgggtcca aaaaaacg	28
	<210> 725	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 725	

	ataacgggta tcggtgccaa aaaaacgc	28
	<210> 726	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 726	
	taacgggat cggtgccaaa aaaaacgca	28
	<210> 727	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 727	
	cgcttggtta tatgtttact gacaacat	28
	<210> 728	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 728	
	gcttggctat atgtttactg acaacatc	28
	<210> 729	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 729	
	ttggctatat gtttactgac aacatcag	28
	<210> 730	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
[0075]	<400> 730	
	tggtatatg ttactgaca acatcagt	28
	<210> 731	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 731	
	ggctatatgt ttactgaca catcagtt	28
	<210> 732	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 732	
	gctatatgtt tactgacaac atcagttt	28
	<210> 733	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 733	
	tatatgttta ctgacaacat cagttttg	28
	<210> 734	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 734	
	atatgtttac tgacaacatc agttttga	28
	<210> 735	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	

	<400> 735	
	atgtttactg acaacatcag tttgaag	28
	<210> 736	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 736	
	tgtttactga caacatcagt ttgaagt	28
	<210> 737	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 737	
	atattgctcc agcagcagat ggttatgg	28
	<210> 738	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 738	
	tatfgctcca gcagcagatg gttatgga	28
	<210> 739	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 739	
	attgctccag cagcagatgg ttatggat	28
	<210> 740	
	<211> 28	
	<212> DNA	
[0076]	<213> 人工序列	
	<400> 740	
	gctccagcag cagatggta tggattgg	28
	<210> 741	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 741	
	ctccagcagc agatggttat ggattggc	28
	<210> 742	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 742	
	cagcagcaga tggttatgga ttggcagg	28
	<210> 743	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 743	
	agcagcagat ggttatggat tggcaggt	28
	<210> 744	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 744	
	gcagcagatg gttatggatt ggcaggtt	28
	<210> 745	
	<211> 28	
	<212> DNA	

	<213> 人工序列	
	<400> 745	
	cagcagatgg ttatggattg gcaggttt	28
	<210> 746	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 746	
	aaagtgacgt atccaggact gacgaagg	28
	<210> 747	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 747	
	aagtgacgta tccaggactg acgaaggt	28
	<210> 748	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 748	
	agtgacgtat ccaggactga cgaaggtt	28
	<210> 749	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 749	
	gtgacgtatc caggactgac gaaggttc	28
	<210> 750	
	<211> 28	
[0077]	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 750	
	tgacgtatcc aggactgacg aaggttct	28
	<210> 751	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 751	
	acgtatccag gactgacgaa ggttctcg	28
	<210> 752	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 752	
	cgtatccagg actgacgaag gttctcgc	28
	<210> 753	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 753	
	gtatccagga ctgacgaagg ttctcgca	28
	<210> 754	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 754	
	tatccaggac tgacgaaggt tctcgcac	28
	<210> 755	
	<211> 28	

	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 755	
	atccaggact gacgaagggt ctcgcact	28
	<210> 756	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 756	
	gatttaatgt cgcatagtgg aacctcac	28
	<210> 757	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 757	
	ttaatgtcg catagtggaa cctcactg	28
	<210> 758	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 758	
	ttaatgtcgc atagtggaac ctcactga	28
	<210> 759	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 759	
	aatgtcgc atgtggaacct cactgacg	28
	<210> 760	
[0078]	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 760	
	atgtcgcata gtggaacctc actgacgc	28
	<210> 761	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 761	
	gtcgcatagt ggaacctcac tgacgcag	28
	<210> 762	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 762	
	tcgcatagtg gaacctcact gacgcagt	28
	<210> 763	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 763	
	cgcatagtgg aacctcactg acgcagtc	28
	<210> 764	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 764	
	catagtggaa cctcactgac gcagtctg	28
	<210> 765	

	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 765	
	ttgaggagtc acttgaagtt gatacaaa	28
	<210> 766	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 766	
	tgaggagtca ctggaagttg atacaaat	28
	<210> 767	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 767	
	gaggagtcac ttgaagttga tacaatc	28
	<210> 768	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 768	
	aggagtcact tgaagttgat acaaatcc	28
	<210> 769	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 769	
[0079]	ggagtcactt gaagttgata caaatcct	28
	<210> 770	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 770	
	gagtcacttg aagttgatac aaatcctc	28
	<210> 771	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 771	
	agtcacttga agttgataca aatcctct	28
	<210> 772	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 772	
	gtcacttga gttgatacaa atcctctt	28
	<210> 773	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 773	
	tcacttgaag ttgatacaaa tcctcttt	28
	<210> 774	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 774	
	cacttgaagt tgatacaaat cctctttt	28

	<210> 775	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 775	
	tggaggca gatcccagca tcataagt	28
	<210> 776	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 776	
	ggaggcaag atcccagcat cataagt	28
	<210> 777	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 777	
	gaggcaaga tcccagcatc ataagtcc	28
	<210> 778	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 778	
	aggcaagat cccagcatca taagtct	28
	<210> 779	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 779	
[0080]	ggcaagatc ccagcatcat aagtcct	28
	<210> 780	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 780	
	ggcaagatcc cagcatcata agtccttc	28
	<210> 781	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 781	
	gcaagatccc agcatcataa gtccttct	28
	<210> 782	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 782	
	caagatcca gcatcataag tccttcta	28
	<210> 783	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 783	
	gatcccagca tcataagtcc ttctacgg	28
	<210> 784	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 784	

	atcccagcat cataagtcct tctacgga	28
	<210> 785	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 785	
	agcaatggat gttttggaa ctttattt	28
	<210> 786	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 786	
	gcaatggatg ttttggaac tttatttc	28
	<210> 787	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 787	
	aatggatggt tttggaactt tattctg	28
	<210> 788	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 788	
	atggatggtt ttggaactt atttctga	28
	<210> 789	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
[0081]	<400> 789	
	ggatgtttt ggaacttat ttctgaag	28
	<210> 790	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 790	
	gatgttttg gaacttatt tctgaaga	28
	<210> 791	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 791	
	atgttttgg aacttattt ctgaagaa	28
	<210> 792	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 792	
	tgttttgga actttatttc tgaagaac	28
	<210> 793	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 793	
	gtttttgga ctttattct gaagaaca	28
	<210> 794	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	

	<400> 794	
	tttgaactt tatttctgaa gaacatgg	28
	<210> 795	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 795	
	cgttctttaa tgaagccggg gatcaaaa	28
	<210> 796	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 796	
	gttctttaat gaagccggg gatcaaaa	28
	<210> 797	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 797	
	ttctttaatg aagccgggg atcaaaa	28
	<210> 798	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 798	
	tctttaatga agccgggtga tcaaatc	28
	<210> 799	
	<211> 28	
	<212> DNA	
[0082]	<213> 人工序列	
	<400> 799	
	cttfaatgaa gccggggat caaatca	28
	<210> 800	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 800	
	ttaatgaag ccggggatc aaaatcac	28
	<210> 801	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 801	
	ttaatgaagc ccggggatc aaatcact	28
	<210> 802	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 802	
	atgaagccgg tggatcaaaa tcactagg	28
	<210> 803	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 803	
	tgaagccggg gatcaaaa cactagga	28
	<210> 804	
	<211> 28	
	<212> DNA	

	<213> 人工序列	
	<400> 804	
	gaagccggtg gatcaaaatc actaggat	28
	<210> 805	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 805	
	acgagaatta ggtacaaccg gagatctg	28
	<210> 806	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 806	
	cgagaattag gtacaaccgg agatctgc	28
	<210> 807	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 807	
	gagaattagg tacaaccgga gatctgca	28
	<210> 808	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 808	
	agaattaggt acaaccggag atctgcac	28
	<210> 809	
	<211> 28	
[0083]	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 809	
	gaattagta caaccggaga tctgcacc	28
	<210> 810	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 810	
	attaggtaca accggagatc tgcaccag	28
	<210> 811	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 811	
	ttaggtacaa ccggagatct gcaccaga	28
	<210> 812	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 812	
	taggtacaac cggagatctg caccagat	28
	<210> 813	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 813	
	aggtacaacc ggagatctgc accagatc	28
	<210> 814	
	<211> 28	

	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 814	
	ggtacaaccg gagatctgca ccagatcc	28
	<210> 815	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 815	
	atccaataag tgctgaagaa ctattcac	28
	<210> 816	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 816	
	tccaataagt gctgaagaac tattcact	28
	<210> 817	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 817	
	ccaataagtg ctgaagaact attcactt	28
	<210> 818	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 818	
	caataagtgc tgaagaacta ttcacttt	28
	<210> 819	
[0084]	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 819	
	taagtgtgga agaactattc acttttgg	28
	<210> 820	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 820	
	gtgctgaaga actattcact ttggcgg	28
	<210> 821	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 821	
	tgctgaagaa ctattcactt ttggcggga	28
	<210> 822	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 822	
	gctgaagaac tattcacttt ttggcggac	28
	<210> 823	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 823	
	gaagaactat tcacttttgg cggacagg	28
	<210> 824	

	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 824	
	aagaactatt cactttggc ggacagga	28
	<210> 825	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 825	
	ttggtatga tatgatgcct gcaccagg	28
	<210> 826	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 826	
	tggtatgata tgatgcctgc accaggcg	28
	<210> 827	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 827	
	ggtatgatat gatgcctgca ccaggcga	28
	<210> 828	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 828	
[0085]	gtatgatatg atgcctgcac caggcgat	28
	<210> 829	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 829	
	tatgatatga tgcctgcacc aggcgata	28
	<210> 830	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 830	
	tgatgatag cctgcaccag gcgataag	28
	<210> 831	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 831	
	gatatgatgc ctgcaccagg cgataagt	28
	<210> 832	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 832	
	atatgatgcc tgcaccaggc gataagtt	28
	<210> 833	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 833	
	atgatgcctg caccaggcga taagtgtg	28

	<210> 834	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 834	
	tgatgcctgc accaggcgat aagttga	28
	<210> 835	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 835	
	accagatgag tgcacaaat cgagtaa	28
	<210> 836	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 836	
	ccagatgagt tgcacaaatc gagtaa	28
	<210> 837	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 837	
	cagatgagtt gcacaaatcg agtaaatt	28
	<210> 838	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 838	
[0086]	agatgagttg cacaaatcga gtaaattc	28
	<210> 839	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 839	
	gatgagttgc acaaatcgag taaattca	28
	<210> 840	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 840	
	atgagttgca caaatcgagt aaattcac	28
	<210> 841	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 841	
	agttgcacaa atcgagtaaa ttcactgg	28
	<210> 842	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 842	
	gttgcacaaa tcgagtaaat ttcactgg	28
	<210> 843	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 843	

	ttgcacaaat cgagtaaatt cactgggt	28
	<210> 844	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 844	
	gcacaaatcg agtaaattca ctggtttg	28
	<210> 845	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 845	
	aaaatgttac cgtacaagaa ttagatgc	28
	<210> 846	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 846	
	aaatgttacc gtacaagaat tagatgca	28
	<210> 847	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 847	
	aatgttaccg tacaagaatt agatgcac	28
	<210> 848	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
[0087]	<400> 848	
	atgttaccgt acaagaatta gatgcaca	28
	<210> 849	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 849	
	gttaccgtac aagaattaga tgcacaag	28
	<210> 850	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 850	
	ttaccgtaca agaattagat gcacaagc	28
	<210> 851	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 851	
	taccgtacaa gaattagatg cacaagca	28
	<210> 852	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 852	
	cgtacaagaa ttagatgcac aagcaagg	28
	<210> 853	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	

	<400> 853	
	tacaagaatt agatgcacaa gcaaggcg	28
	<210> 854	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 854	
	acaagaatta gatgcacaag caaggcgc	28
	<210> 855	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 855	
	tatggcgctt attatggta tcaatgtg	28
	<210> 856	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 856	
	gtgcttatta tggttatcaa tgtcggg	28
	<210> 857	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 857	
	cttattatgg ttatcaatgt gcgggtgg	28
	<210> 858	
	<211> 28	
	<212> DNA	
[0088]	<213> 人工序列	
	<400> 858	
	ttattatggt tatcaatgtg cgggtggt	28
	<210> 859	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 859	
	tattatggtt atcaatgtgc gggtgta	28
	<210> 860	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 860	
	attatggta tcaatgtcgc ggtgtac	28
	<210> 861	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 861	
	ttatggtat caatgtcgg gtgtaca	28
	<210> 862	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 862	
	tatggtatc aatgtcggg tgggtac	28
	<210> 863	
	<211> 28	
	<212> DNA	

	<213> 人工序列	
	<400> 863	
	atggttatca atgtgcgggt ggtacacc	28
	<210> 864	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 864	
	tggttatcaa tgtcgggtg gtacacca	28
	<210> 865	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 865	
	tcataactta ccgtggacc tcagaag	28
	<210> 866	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 866	
	cataacttac cgtggaccct tcagaaga	28
	<210> 867	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 867	
	ataacttacc gttggaccct cagaagaa	28
	<210> 868	
	<211> 28	
[0089]	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 868	
	aacttaccgt ggaccctca gaagaatg	28
	<210> 869	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 869	
	acttaccgtg gaccctcag aagaatga	28
	<210> 870	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 870	
	cttaccgtgg accctcaga agaatgaa	28
	<210> 871	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 871	
	ttaccgtgga ccctcagaa gaatgaaa	28
	<210> 872	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 872	
	taccgtggac cctcagaag aatgaaac	28
	<210> 873	
	<211> 28	

	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 873	
	accgtggacc cttcagaaga atgaaca	28
[0090]	<210> 874	
	<211> 28	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<400> 874	
	ccgtggacc ttcagaagaa tgaacac	28

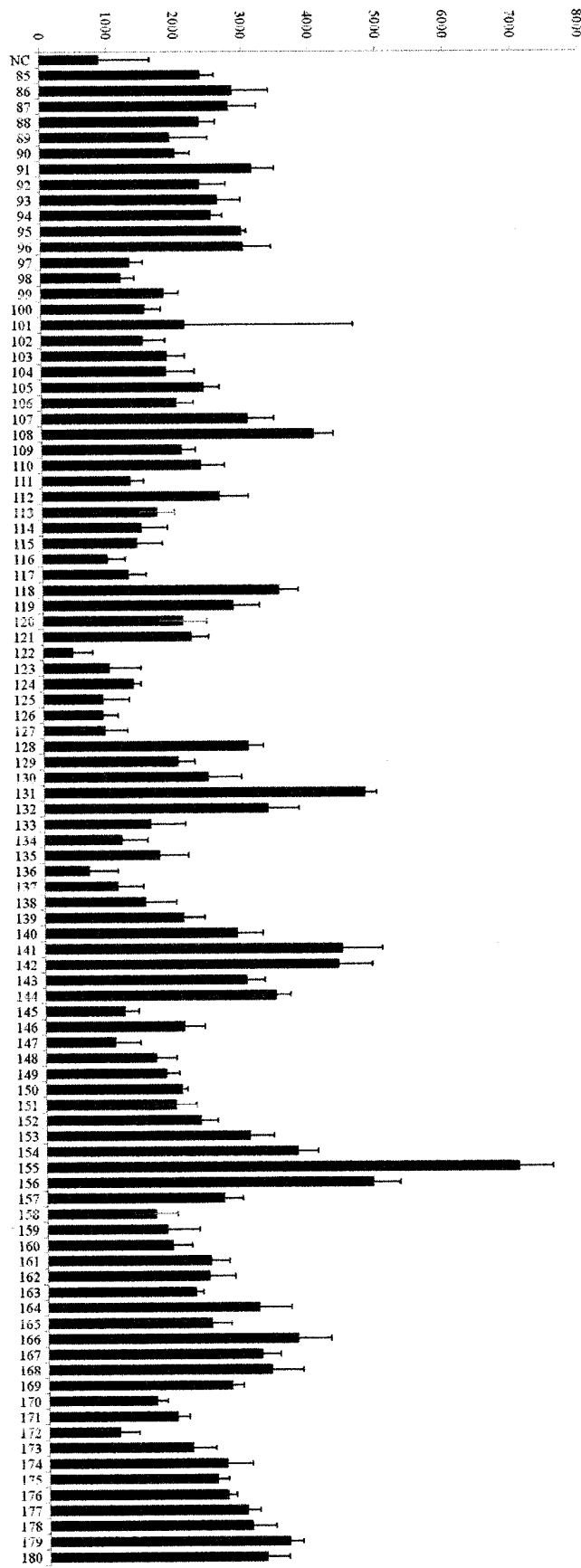


图1



图2

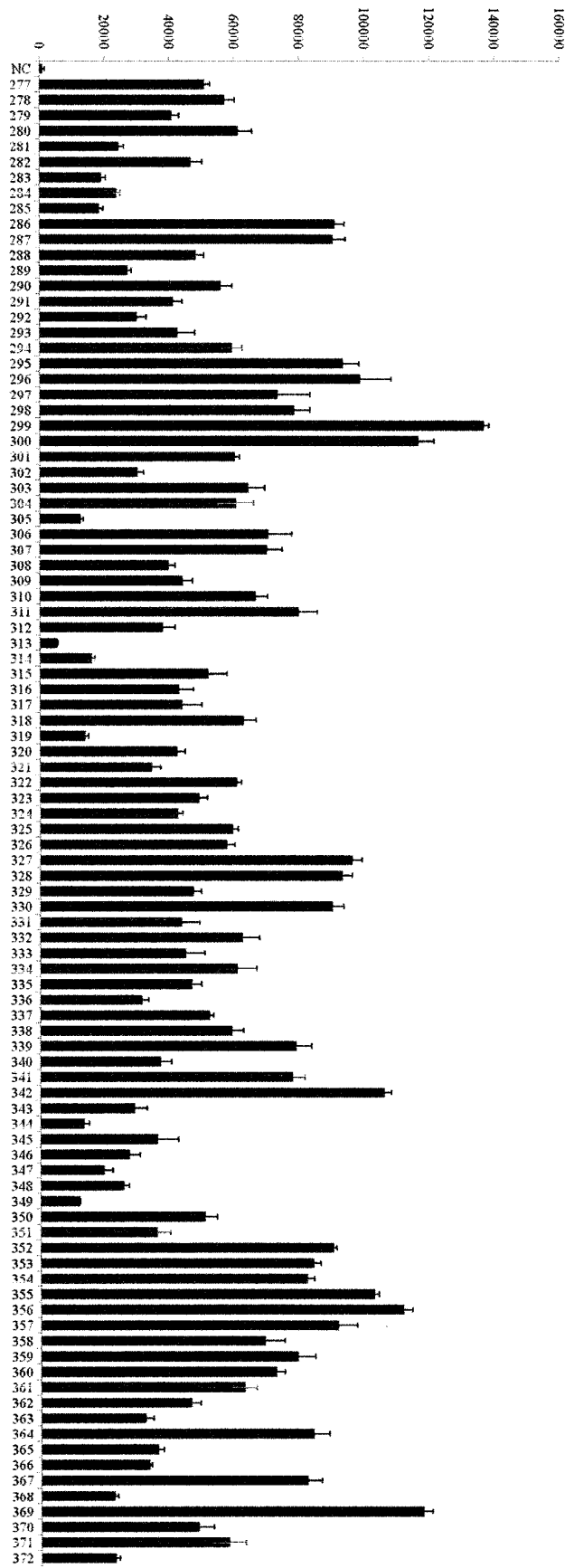


图3

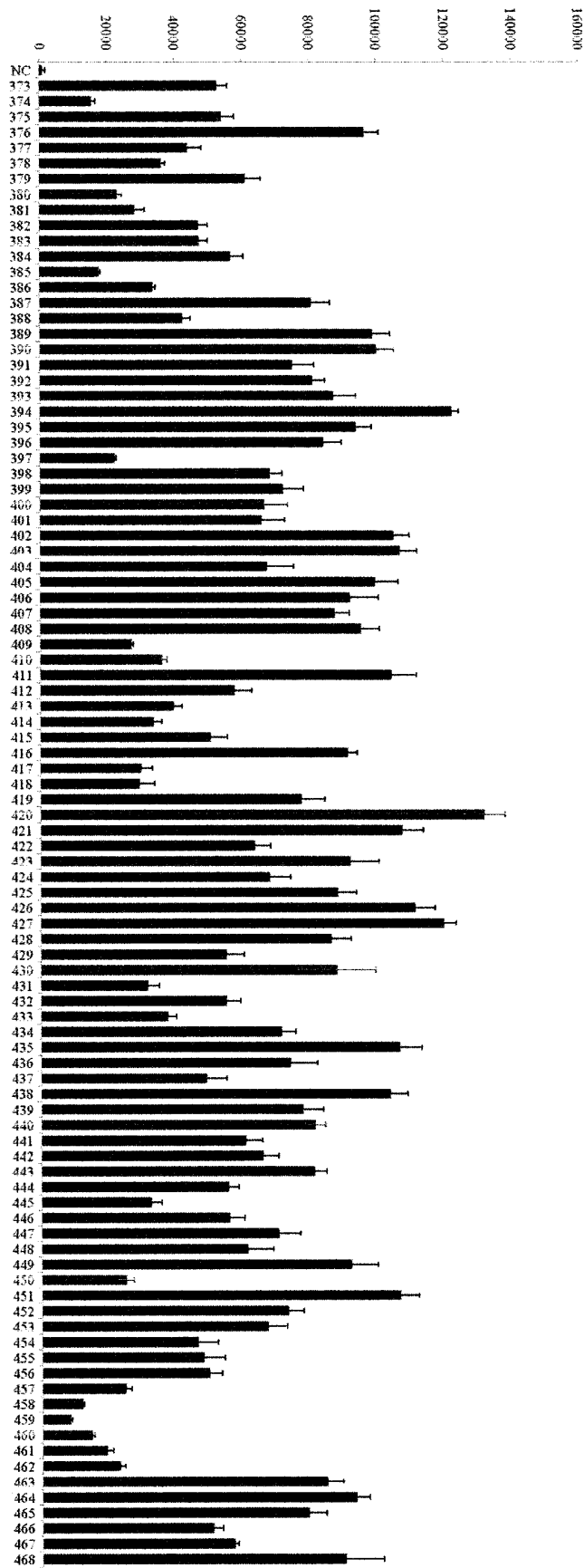


图4

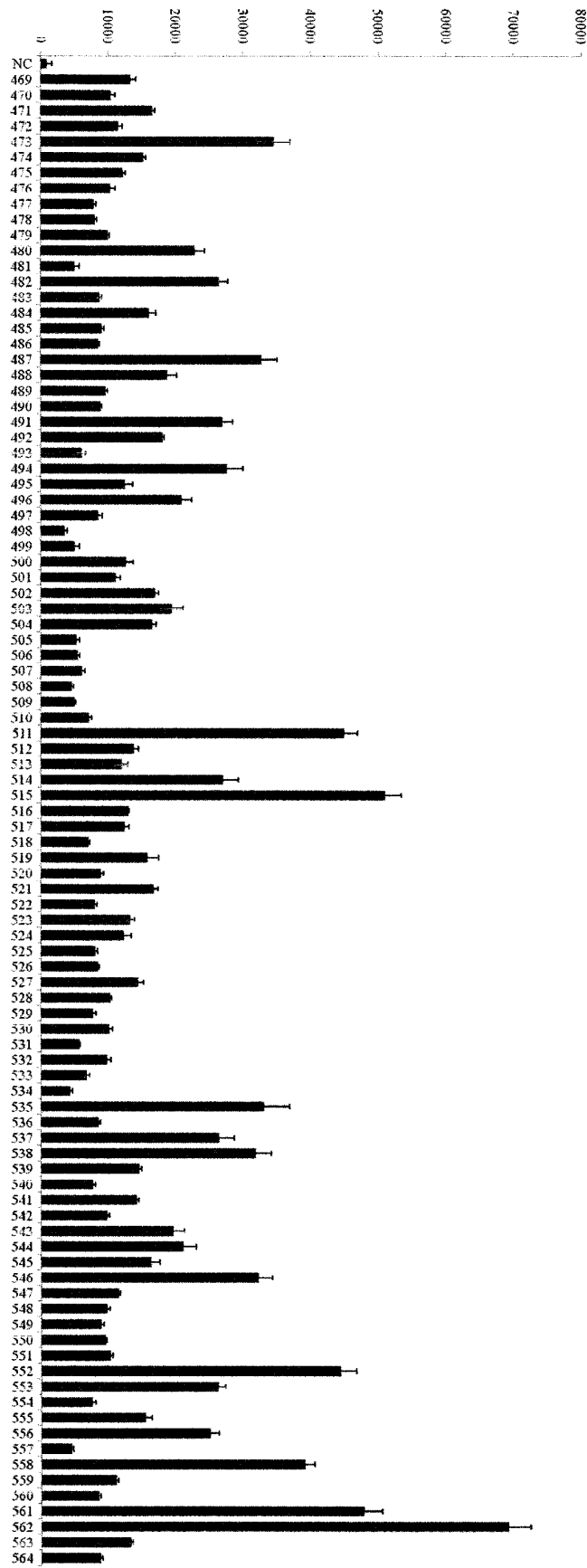


图5

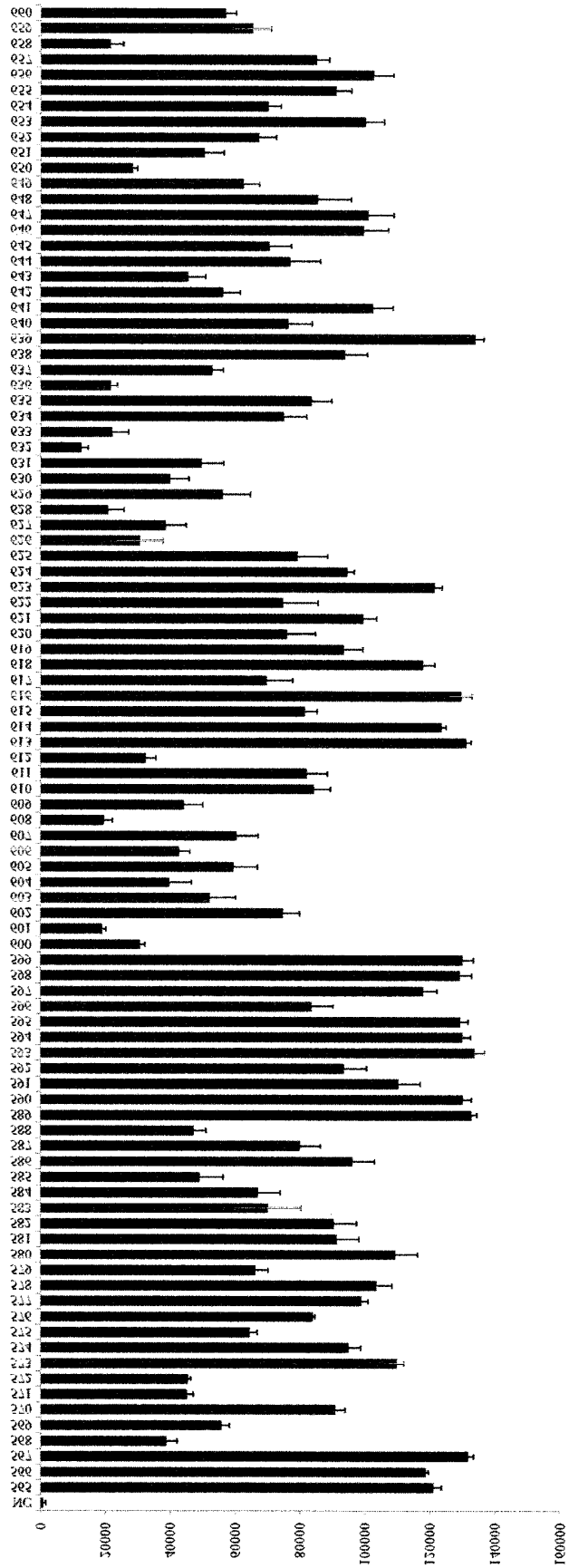


图6

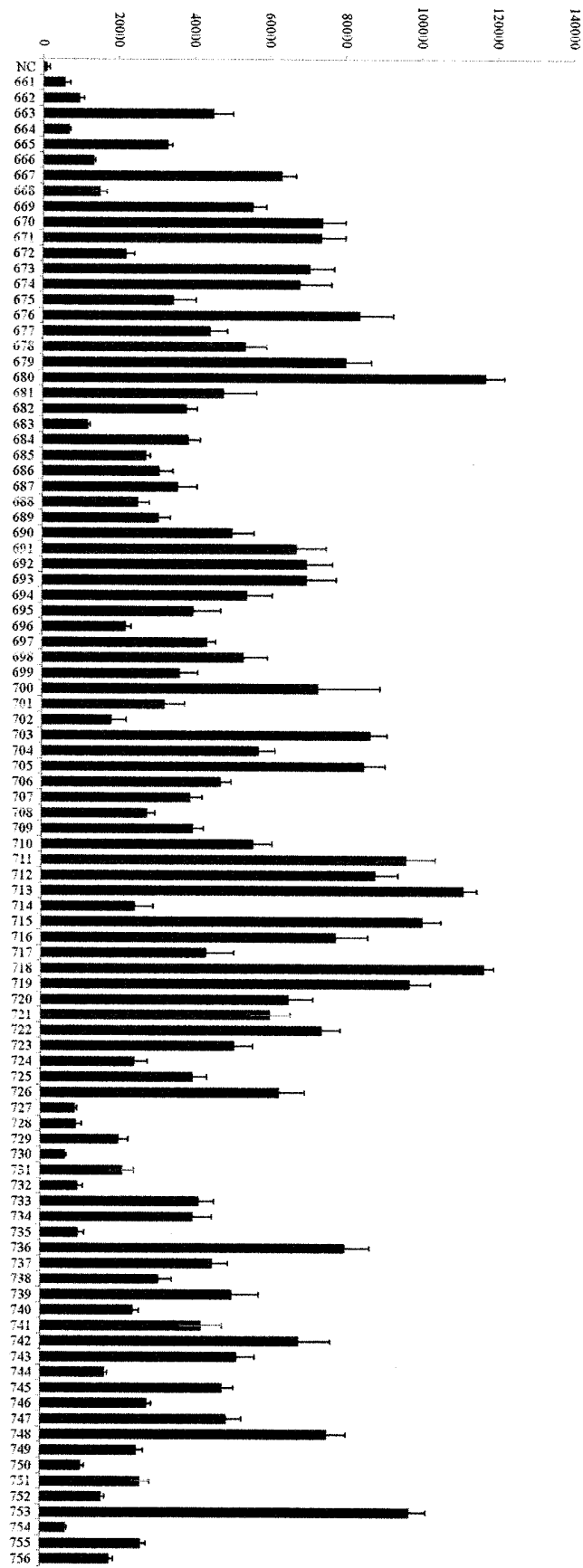


图7

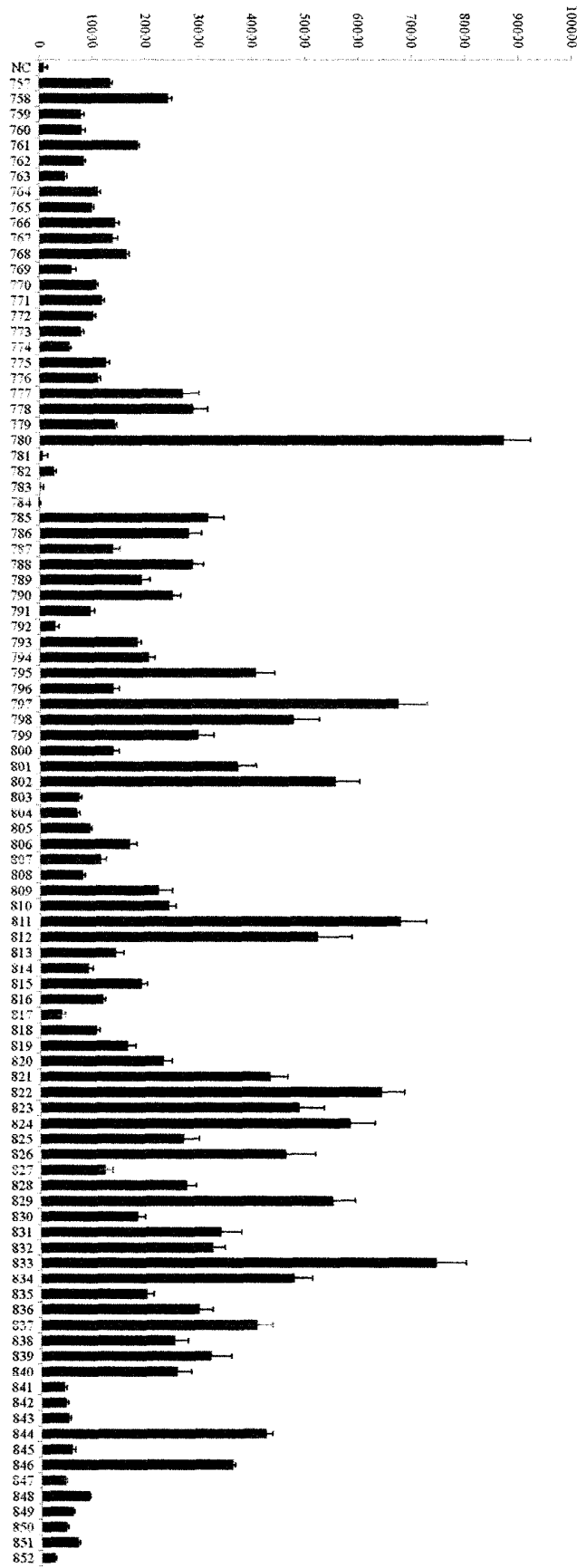


图8



图9